

Alma Mater Studiorum – Università di Bologna

SCUOLA DI INGEGNERIA ED ARCHITETTURA
DIPARTIMENTO DI INGEGNERIA DELL'ENERGIA ELETTRICA
E DELL'INFORMAZIONE "GUGLIELMO MARCONI" (DEI)
Campus di Cesena

Laurea Magistrale
in
INGEGNERIA BIOMEDICA

Tesi in
SISTEMI NEURALI LM

*Elaborazione dell'Elettroencefalogramma e Analisi della
Connettività Cerebrale in Soggetti con Ridotto ed Elevato
Tratto Autistico*

PRESENTATA DA:
Michele Serra

No. di Matricola: 923439

RELATORE:
Chiar.mo Prof. Mauro Ursino

CORRELATORI:
Prof.ssa Elisa Magosso
Prof. Vincenzo Romei
Dott.ssa Giulia Ricci
Dott. Luca Tarasi

Sessione di Laurea: 10 febbraio 2022
ANNO ACCADEMICO 2020/2021

Indice

Abstract	1
Introduzione	2
L'autismo: caratteristiche e cenni storici	4
Il cervello: organizzazione, elementi costitutivi e comunicazione	7
L'encefalo	7
Il neurone	8
La comunicazione nel cervello	10
L'elettroencefalografia	13
Lo stato corrente della ricerca	18
Materiale e metodi	20
Partecipanti	20
Acquisizione dell'EEG e pre-processing	21
Ricostruzione delle Sorgenti Corticali e definizione delle ROI	22
Analisi della Causalità di Granger	28
Analisi statistica	34
Misure di centralità	35
Grafici	41
Risultati	44
Rappresentazione della connettività	44
Analisi statistica	52
Misure di centralità	54
Discussione	77
Sui pattern di connettività	77
Sulle misure di centralità	78

Sugli outliers	80
Conclusione	86
Bibliografia.....	89

Abstract

Nel corso dell'ultimo secolo la definizione di "autismo" è cambiata in maniera significativa rispetto a quella inizialmente proposta da Kanner, pioniere nell'ambito della ricerca sull'autismo. Il più significativo cambiamento è in particolare costituito dal passaggio da una definizione dicotomica a una visione continua dell'autismo, con il conseguente conio del termine "disturbi dello spettro autistico" (*abbr.* DSA). Questo cambiamento paradigmatico è associato alla presa di coscienza che questi disturbi si presentano con caratteristiche ed entità diverse da individuo a individuo. Inoltre, sono crescenti le evidenze che suggeriscono la presenza di tratti autistici anche al di fuori della popolazione clinica. In linea con queste osservazioni, l'obiettivo del mio lavoro di tesi è stato quello di verificare come i pattern di connettività variano fra soggetti ad alto e basso tratto autistico non affetti da disturbi psichiatrici o clinici, nonché di verificare se questi pattern di connettività esibiscono una continuità con quanto osservato in letteratura su soggetti diagnosticati con DSA. A tale scopo, sono stati ottenuti i tracciati EEG da quaranta partecipanti allo studio. Per mezzo della causalità di Granger sono state ottenute le connettività. Le connettività sono state sottoposte sia a test di tipo statistico (*Monte Carlo testing*) che ad una analisi della centralità mediante l'impiego della teoria dei grafi. I risultati ottenuti per soggetti a basso tratto autistico sembrano accordarsi con quanto riportato in letteratura. Cionondimeno, la presenza nel gruppo ad alto tratto autistico di alcuni importanti *outlier* (soggetti con connettività estremamente elevate in una sola direzione) impedisce di raggiungere risultati definitivi. In particolare, i *p-value* elevati associati sia alle misure di centralità che alle connessioni sembrerebbero essere sintomatici di risultati non statisticamente significativi.

Capitolo 1 – Introduzione

Fino dalle prime descrizioni, più di tre quarti di secolo fa, ad opera di Asperger (Asperger, 1938) e Kanner (Kanner, 1943), la ricerca sull'autismo ha trovato nell'ambito delle neuroscienze un terreno fertile per la propria crescita. Per merito degli inestimabili contributi di numerosi autori, il concetto di autismo è radicalmente cambiato rispetto alla sua visione iniziale. Tuttavia, nonostante il prolifico ambiente di ricerca, rimangono ancora molti interrogativi irrisolti e aspetti da esaminare.

Nel corso degli ultimi decenni, all'interno della letteratura riguardante l'autismo si è diffuso un notevole interesse diretto allo studio della connettività. Concetti nati in campi diversi da quello delle neuroscienze, come la causalità di Granger (economia) e la teoria dei grafi, sono stati applicati con successo da diversi autori portando nuovi contributi e nuovi punti di vista sui meccanismi sottostanti l'autismo. Questo lavoro si propone di proseguire su questa strada. Applicando i concetti di causalità di Granger e centralità (derivato dalla teoria dei gravi) si vuole indagare la connettività all'interno del cervello. In particolare, si vogliono qui esplorare le differenze nei pattern di connettività che emergono osservando soggetti ad alto tratto e basso tratto autistico. L'attenzione sarà rivolta in particolare a soggetti sani, volontariamente partecipanti allo studio, non a casi clinici, per quanto permanga l'interesse nella traslabilità dei risultati. Facendo ricorso ai tracciati EEG ottenuti dai 40 partecipanti allo studio, ricaveremo le connettività al fine di approfondirne le caratteristiche.

Questo lavoro si compone di quattro parti. La prima parte si prefigge l'obiettivo di introdurre il lettore agli argomenti trattati in questa tesi. Si partirà con una panoramica sull'autismo. Questo sarà introdotto da un punto di vista storico, ponendo particolare attenzione al mostrare come il concetto di autismo è cambiato nel corso del Ventesimo secolo, fino ad assumere la forma che ora gli è propria. Passando da una interpretazione dicotomica dell'autismo ad una continua, si coglierà l'occasione per introdurre la quantificazione del tratto autistico con un accenno al quoziente di spettro autistico di Baron-Cohen (Baron-Cohen, et al., 2001). Prima di introdurre la connettività cerebrale, per completezza, un breve richiamo verrà fatto ad alcuni aspetti di anatomia del cervello. Terminato questo segmento, si proseguirà vedendo in maniera più approfondita cosa significhi connettività a livello cerebrale. L'introduzione della connettività ci fornisce

l'occasione per accennare all'elettroencefalografia, tecnica di registrazione impiegata in questo lavoro. Questa prima parte si conclude riconoscendo quello che è attualmente lo stato della ricerca. Si farà qui riferimento a ciò che attualmente è noto sulla connettività nell'autismo, nonché alle differenze attualmente ipotizzate fra la connettività in soggetti ad alto e basso tratto autistico. Qui saranno anche definiti gli obiettivi di questo studio e il suo ruolo all'interno della letteratura.

Nella sezione denominata "Materiali e Metodi" verrà illustrato il procedimento attraverso cui sono stati ottenuti ed elaborati i dati. Inizialmente si descriverà brevemente la popolazione da cui i dati sono stati ricavati, accennando alla modalità di quantificazione del tratto autistico e al processo di acquisizione dei dati. Una volta definiti propriamente i dati con cui lavoreremo, si illustrerà il processo di ricostruzione delle sorgenti definendo qui le Regioni di Interesse (*Regions of Interest*, abbr. ROI) da noi impiegate. Illustrando il processo di ricostruzione delle sorgenti, fornirò alcuni concetti di problema diretto e inverso, propedeutici alla sua comprensione. Alla ricostruzione delle sorgenti seguirà l'analisi della causalità di Granger. L'analisi della causalità di Granger, tecnica nata in economia per determinare relazioni di causa-effetto fra serie temporali, sarà impiegata per ottenere la connettività fra le ROI. Una volta ottenute le connettività si introdurrà l'analisi statistica applicata a queste, nello specifico *Monte Carlo testing*. In parallelo, si procederà presentando alcune misure di centralità. L'applicazione di questi concetti, mutuati dalla teoria dei grafi, ci consentirà di individuare le ROI più coinvolte nei due gruppi di studio (alto e basso tratto autistico). L'illustrazione della componente grafica di questo lavoro conclude la sezione "Materiali e Metodi".

In "Risultati" si illustra quanto ottenuto dalla applicazione delle elaborazioni appena presentate. Una interpretazione di tali risultati verrà fornita nella "Discussione". Questa sezione insieme alla "Conclusione" terminerà l'elaborato.

Capitolo 2 – L'autismo: caratteristiche e cenni storici

I disturbi dello spettro autistico (*abbr.* DSA), più spesso e impropriamente indicati con il generico termine “autismo”, indicano un disturbo dello sviluppo caratterizzato da disabilità dal punto di vista sociocomunicativo, comportamenti rigidi e ripetitivi, interessi limitati (Frith & Happé, 2005).

Nonostante le evidenti caratteristiche cliniche che lo accompagnano, i casi di autismo documentati prima del Ventesimo secolo sono pochi. Per secoli, lungi dall'essere assente, l'autismo con i suoi tratti caratteristici è stato interpretato come una mancanza di senso comune o una forma di follia (Haslam, 1809). È necessario attendere fino la metà del '900 per incontrare i primi studi strutturati riguardanti questa condizione. La prima adozione della parola “autismo” con la connotazione che oggi gli è propria si deve al pediatra Viennese Hans Asperger (Asperger, 1938). I bambini descritti da Asperger erano accumulati da alcuni tratti comuni: estremamente dotati da un punto di vista matematico, capaci di pensare in modo originale e creativo, i pazienti di Asperger avevano una ridotta empatia, esibivano dei comportamenti stereotipati e goffi, adottavano un linguaggio peculiare (per quanto non presentassero ritardo nell'acquisizione). Oggi conosciuta come sindrome di Asperger, la “psicopatía autistica” di Asperger poteva essere riconosciuta nell'infanzia ed era destinata a perdurare per tutta la vita dell'individuo. Allo stesso periodo risale anche il lavoro dell'austriaco Leo Kanner. In “*Autistic Disturbances of Affective Contact*” (Kanner, 1943), Kanner raccoglie le sue osservazioni su una “condizione che differisce in maniera marcata e unica da qualunque altra fino ad ora riportata”. Gli undici bambini che nel 1938 componevano il primo gruppo studiato da Kanner presentavano alcune caratteristiche comuni: l'allargamento della circonferenza cranica in cinque di essi, l'incapacità di formare contatto affettivo, nonché una maggioranza di maschi rispetto a femmine (solamente 3). Nel corso dei successivi 30 anni Kanner lavorò con più di 100 bambini autistici. Quello di Kanner è un lavoro sistematico, ricco di spunti, alcuni tutt'ora validi, altri superati. Nonostante l'eccellente lavoro, Kanner fallì nell'identificare la causa dell'autismo, indicandone come origine la mancanza di affetto da parte dei genitori.

I lavori di Asperger e, in particolare, di Kanner aprirono la strada nella seconda metà del '900 a numerose ricerche sull'autismo. Un'immediata conseguenza fu

l'allargarsi della definizione di autismo inizialmente fornita da Kanner. Si iniziarono ad includere fra gli autistici anche i bambini che esibivano una sintomatologia simile dovuta tuttavia a cause diverse, come danni cerebrali e ritardi. Durante gli anni '60 e '70 il lavoro di Michael Rutter e Israel Kolvin consentì di restringere nuovamente la definizione di autismo. Rutter e Kolvin portarono dei contributi importanti alla definizione del concetto di autismo. La critica di Kolvin (Kolvin, 1971) alla comune associazione dello sguardo vacuo del bambino autistico ad una fuga nella fantasia, seguita poi dall'attribuzione all'autismo, da parte di Rutter (Rutter, 1972), di una mancanza di capacità immaginativa, scossero quelle che fino ad allora erano considerati capisaldi dell'autismo.

Gli studi di Lorna Wing e Judith Gould determinarono negli anni '80 una nuova espansione del concetto di autismo. La riscoperta da parte di Wing dei lavori di Asperger su una forma di autismo associata ad elevati livelli di competenza nello svolgimento di alcuni task (*p.es.* matematici), porta in questi anni alla nascita del concetto di disturbi dello spettro autistico. L'abbandono del tradizionale approccio dicotomico all'autismo, con conseguente adozione di una descrizione continuativa, consentì di meglio rappresentare una condizione che si presenta in numerose forme, tutte accumulate da disabilità nell'ambito dell'interazione sociale e della comunicazione. Conseguentemente a questo profondo cambiamento del concetto di autismo, aumentarono le diagnosi.

Oggi esiste un consenso comune sulla appropriatezza di una definizione continua dell'autismo, accomunata dal termine "disturbi dello spettro autistico" (*abbr.* DSA). Mentre rimangono non del tutto spiegate le cause, siamo a conoscenza di una base genetica dell'autismo: si ha una occorrenza del 7-20% per i figli successivi a quelli diagnosticati con disturbi dello spettro autistico, destinata ad aumentare con il numero di fratelli e sorelle maggiori affetti da DSA. Sono stati suggeriti diversi fattori di rischio che potrebbero aumentare le possibilità di una diagnosi di DSA: gravidanze in età avanzata (Idring, et al., 2014) oppure a breve distanza (Lyall, et al., 2017) sono state associate con un incremento del rischio di una diagnosi di DSA. Ad oggi non esiste una maniera di "curare" l'autismo, ma l'idea stessa di autismo come una condizione da curare si accompagna ad importanti questioni etiche (siamo veramente di fronte ad una malattia?). Per quanto i disturbi dello spettro autistico siano una condizione con la quale l'individuo deve convivere per tutta la vita, un intervento rapido e appropriato mediante, ad esempio, programmi educativi personalizzati consente di limitare le conseguenze a lungo termine

più negative e garantire un certo grado di autonomia. Questo rende di vitale importanza sviluppare strumenti che consentano di realizzare diagnosi affidabili quanto più presto possibile.

Con il cambiamento paradigmatico dovuto all'introduzione della nozione di DSA, diventa sempre più sentita la necessità di fornire una quantificazione del tratto autistico. Da metodi più tradizionali, basati sulla osservazione del comportamento, come l' *Autism Diagnostic Observation Schedule* (Lord, et al., 2000) impiegato in ambito di diagnosi infantile, fino a metodi basati sull'osservazione dei movimenti del cranio (Martin, et al., 2018) o l'EEG (Jayarathna, et al., 2019), le strategie proposte nel corso degli anni per valutare, in maniera più o meno oggettiva, il tratto autistico sono state diverse. Principalmente orientate alla diagnosi in età infantile (fase più importante per mettere in atto un intervento compensativo delle disabilità), alcune possibili soluzioni sono state proposte anche per valutare la presenza e l'entità del tratto autistico negli adulti. Fra i più noti vi è probabilmente il questionario *autism-spectrum quotient* (abbr. *AQ*) proposto da Simon Baron-Cohen e colleghi (Baron-Cohen, et al., 2001). Il questionario, composto da 50 quesiti, produce un punteggio (massimo 50) utile per finalità di screening e valutazione della presenza di tratti autistici nella popolazione generale (Hoekstra, et al., 2007). Il questionario *AQ* sarà lo strumento impiegato in questo lavoro per quantificare il tratto autistico nei partecipanti allo studio.

Capitolo 3 – Il cervello: organizzazione, elementi costitutivi e comunicazione

Parlando di autismo (e in particolare di come questo influisca sulla connettività a livello cerebrale) risulta opportuno accennare al cervello, come questo è organizzato, quali sono i suoi elementi costitutivi e come le sue parti comunicano fra loro.

3.1 L'encefalo

Il cervello è parte del sistema nervoso centrale (*abbr.* SNC), svolgendo all'interno di esso il ruolo di centro di elaborazione dell'informazione, controllo degli arti, nonché sede delle "funzioni superiori" (pensiero e coscienza fra di esse). Il cervello origina dall'encefalo di cui rappresenta la porzione principale. La porzione di encefalo che costituisce il cervello è il prosencefalo. Il prosencefalo a sua volta si compone di due parti dette telencefalo e diencefalo. Il diencefalo comprende talamo e ipotalamo. Il diencefalo è quasi completamente avvolto dal telencefalo. Il telencefalo si compone principalmente dei due emisferi cerebrali. Gli emisferi si compongono di due strati: lo strato più esterno è costituito dalla sostanza grigia, la massa interna è costituita dalla sostanza bianca. La sostanza grigia si compone di fibre nervose non mielinizzate. La mielina stessa determina il colore caratteristico della sostanza bianca. Gli emisferi cerebrali vengono generalmente suddivisi in lobi sulla base dei solchi che li attraversano. I lobi sono detti frontale,

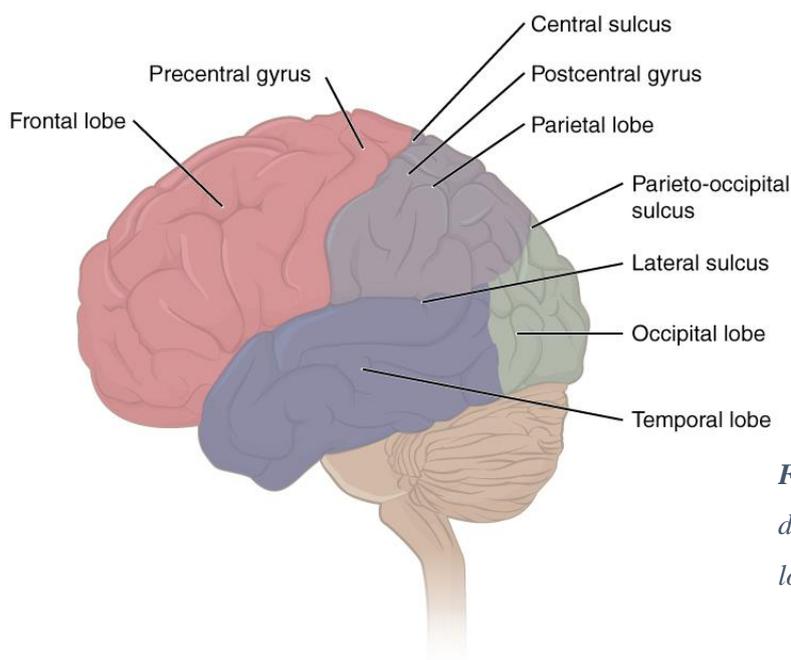


Figura 1 - Rappresentazione della divisione del cervello in lobi.

parietale, temporale e occipitale. I lobi frontali si trovano nella posizione più rostrale dell'encefalo, sono molto larghi e vengono considerati il centro della vita sociale ed emotiva dell'individuo. L'inclusione da parte dei lobi frontali delle cortecce motorie e premotorie ne determina il coinvolgimento sia nel controllo del movimento che nei meccanismi di attenzione (attraverso il controllo dei movimenti oculari). I lobi temporali si trovano in posizione laterale. Posizionati appena sopra le orecchie, questi lobi sono coinvolti nella elaborazione dei suoni e nella loro comprensione, oltre a rivestire un ruolo importante nel riconoscimento dei volti e, più in generale, in processi legati alla memoria. I lobi parietali, localizzati dietro i lobi frontali e sopra i lobi temporali, sono prevalentemente coinvolti nei processi percettivi. Le loro funzioni includono il *processing* visuospatiale, ovvero la capacità di comprendere in che relazione è il nostro corpo con gli oggetti che lo circondano, permettendoci in tal modo di interagire con essi e con l'ambiente. I lobi occipitali sono localizzati nella parte più caudale del cervello e sono principalmente coinvolti nella percezione visiva.

Per quanto generalmente ai lobi vengono imputati ruoli specifici, le diverse funzioni vengono svolte per merito della integrazione dell'attività di diversi lobi.

3.2 Il neurone

Il cervello (o più in generale il sistema nervoso) è composto principalmente da neuroni. I neuroni sono cellule discrete e costituiscono le unità computazionali primarie del sistema nervoso. Rispetto alle altre cellule, i neuroni con le loro caratteristiche peculiari (sia per forma, per capacità della membrana di generare impulsi etc.) consentono di fare operare il sistema nervoso in maniera unica. Il cervello umano consiste di circa 10^{11} neuroni, nessuno identico ad un altro (Stevens, 1979). Nonostante ciò, i neuroni possono essere raccolti in un numero ridotto di categorie e, in generale, condividono la presenza di alcune regioni: corpo cellulare, dendriti, assone. Il corpo cellulare, generalmente sferico o piramidale, contiene il nucleo. I dendriti presentano una struttura tubulare e si estendono dal corpo cellulare. Attraverso i dendriti avviene la ricezione dell'informazione. L'assone si estende anche esso dal corpo cellulare. Diversamente dai dendriti, gli assoni sono più lunghi e sottili, con ramificazioni in lontananza rispetto al corpo cellulare. Gli assoni consentono la trasmissione dell'informazione in direzione di altri neuroni. I neuroni possono essere classificati sulla base della loro funzione o struttura.

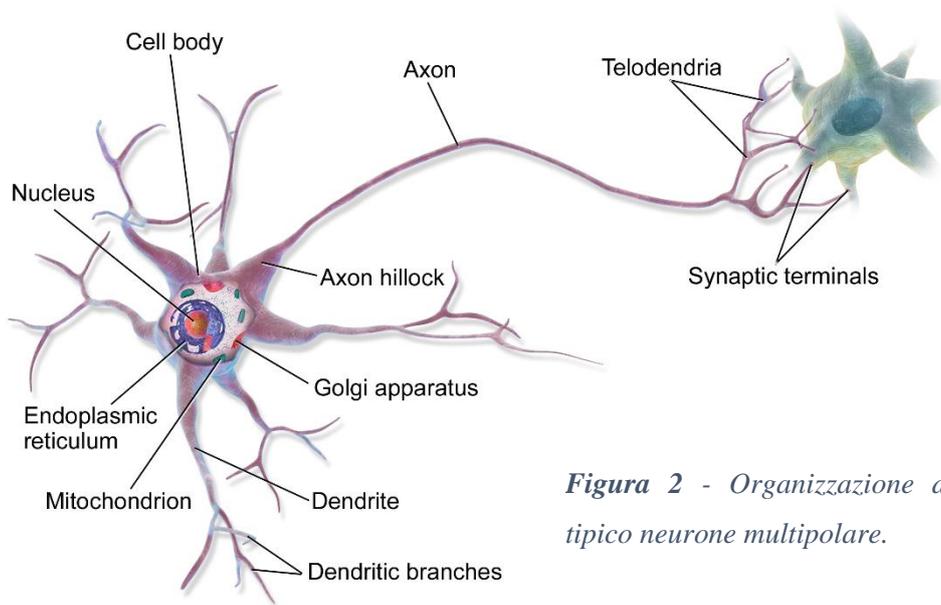


Figura 2 - Organizzazione di un tipico neurone multipolare.

A seconda della loro funzione, i neuroni si dividono in afferenti (o sensoriali), efferenti (o motori), e interneuroni. Gli interneuroni popolano il sistema nervoso centrale, e pertanto il cervello. A seconda della struttura i neuroni si distinguono invece in unipolari (singolo processo), bipolari (un assone e un dendrite), multipolari (un assone e due o più dendriti), anassonici e pseudo-unipolari.

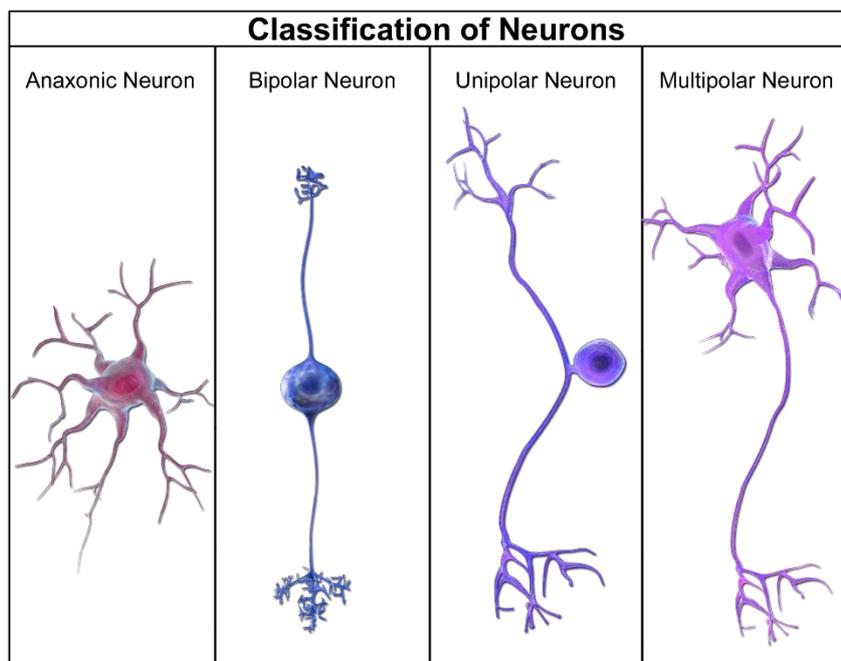


Figura 3 - Classificazione strutturale dei neuroni.

3.3 La comunicazione nel cervello

Nel paragrafo precedente è stato introdotto il cervello insieme con la sua organizzazione e la sua unità computazionale primaria, il neurone. Partendo da quanto già accennato sul neurone, illustrerò come avviene la trasmissione di informazione fra i neuroni. Dalla comunicazione fra coppie di neuroni mi muoverò ai fenomeni a cui questa dà luogo.

La comunicazione fra i neuroni avviene attraverso segnali di natura elettrochimica. I neuroni sono fra loro in comunicazioni in corrispondenza delle sinapsi, speciali punti di contatto fra coppie di neuroni detti pre- e post-sinaptici. All'arrivo di un impulso nervoso, il bottone terminale del neurone presinaptico rilascia vescicole di neurotrasmettitore. Il neurotrasmettitore si diffonde nello spazio sinaptico in direzione del neurone postsinaptico. Il legame dei neurotrasmettitori con i recettori disposti sui dendriti dei neuroni postsinaptici ne determina l'aumento (eccitazione) o la diminuzione (inibizione) del potenziale di membrana per effetto dell'interazione con i suoi canali ionici. Il successivo propagarsi dell'informazione in direzione di altri neuroni dipende dall'efficacia della stimolazione. Una stimolazione efficace, in particolare, si realizza quando il potenziale di membrana supera il valore soglia di -55 mV, dando inizio a un fenomeno del tutto o del nulla detto Potenziale di Azione (*abbr.* PA). Con PA si indica l'aumento del potenziale di membrana della cellula nervosa fino ad una sua inversione,

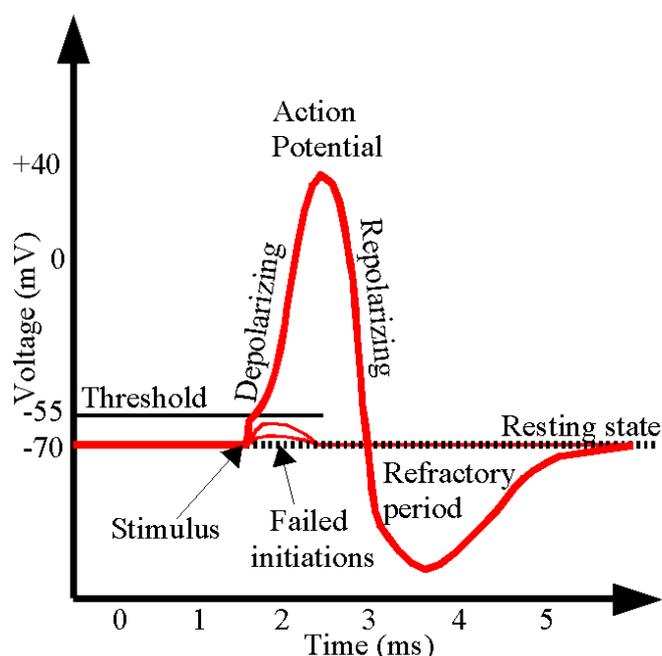


Figura 4 - Susseguirsi delle fasi del potenziale di azione nel corso del tempo.

raggiungendo il valore positivo di +40 mV. Il PA è un fenomeno stereotipato che si presenta e si manifesta sempre con le stesse caratteristiche: la cellula nervosa (tipicamente con potenziale di membrana oscillante intorno al valore di -70 mV), una volta raggiunto il potenziale di soglia, manifesta un rapido aumento del potenziale di membrana fino a +40 mV per effetto della apertura dei canali del sodio (e del suo conseguente ingresso nella cellula). La chiusura dei canali del sodio e l'apertura più lenta dei canali del potassio consente di ripristinare la polarizzazione della membrana, passando per una fase di temporanea iperpolarizzazione (potenziale di membrana inferiore a -70mV) durante la quale nuovi potenziali di azione possono verificarsi solo per effetto di stimolazioni più forti. Il PA generato nella cellula nervosa sarà condotto lungo l'assone (dove tramite lo stesso meccanismo sarà periodicamente rigenerato), fino ad essere trasmesso al neurone successivo. In virtù della sua natura stereotipata, il singolo PA non può costituire il linguaggio attraverso cui è codificata l'informazione. Nel linguaggio binario (presenza/assenza PA) impiegato dai neuroni, l'intensità della stimolazione a cui è sottoposto il neurone presinaptico determina la frequenza a cui si susseguono i potenziali di azione. La frequenza dei potenziali è limitata superiormente in virtù della impossibilità di generare nuovi potenziali di azioni nel corso del periodo refrattario assoluto (il periodo che incorre fra l'inizio di un potenziale di azione e il termine della ripolarizzazione). Pertanto, l'inverso del periodo refrattario assoluto è il valore di saturazione per la frequenza del treno di potenziali di azione.

Una delle conseguenze delle connessioni fra i neuroni sono le onde cerebrali. A livello di rete, i neuroni formano gruppi e le attività sincrone di questi gruppi di neuroni danno origine a fenomeni ondulatori, le onde cerebrali (Buzsáki & Draguhn, 2004). Queste onde vengono generalmente divise in gruppi a seconda della banda di frequenza in cui sono localizzate: delta (0.1:4 Hz), teta (4:7 Hz), alfa (8:12 Hz), beta (12:30 Hz) e gamma (30:100 Hz). Diverse onde sono associate ad attività diverse: il ritmo delta è associato alla esperienza di un sonno profondo senza sogni, il ritmo teta emerge durante la navigazione spaziale e i processi di memoria, il ritmo alfa è comunemente associato al rilassamento e all'attesa di stimoli dall'esterno o all'inibizione di stimoli non influenti, il ritmo beta indicherebbe uno stato di allerta e attività intellettuale, al ritmo gamma si imputa la modulazione della percezione e della coscienza. Il dibattito sull'effettivo ruolo della attività oscillatoria è tuttavia ancora aperto. La stessa concezione delle onde alfa nel

corso degli ultimi anni ha subito cambiamenti radicali: inizialmente associate ad uno stato *idling* del cervello, queste onde sembrerebbero coinvolte in meccanismi più complessi, come, ad esempio l'accesso alle informazioni conservate in memoria [Klimesh, 2012]. Le onde cerebrali, più in generale, sembrerebbero essere coinvolte nei fenomeni cognitivi di *binding* (percezione elementi separati come una esperienza complessiva) e *segmentation* (separazione di elementi appartenenti a stimoli diversi).

Questi fenomeni oscillatori sono particolarmente apprezzabili nelle registrazioni dell'elettroencefalogramma. Proprio per la loro prominenza in posizione occipitale durante la registrazione elettroencefalografica ad occhi chiusi, le onde alfa furono il primo dei ritmi ad essere osservati da Berger, già nella prima metà del XX secolo.

Capitolo 4 – L’elettroencefalografia

Poiché l’elettroencefalografia (*abbr.* EEG) rappresenta uno dei punti focali di questo lavoro, ritengo sia opportuno introdurre questa tecnica e il segnale che essa consente di registrare (l’elettroencefalogramma). L’elettroencefalogramma è il segnale alla base del nostro studio così come di numerosi lavori nell’ambito delle neuroscienze. Procederò illustrando brevemente la storia della tecnica, la modalità e l’oggetto della registrazione.

Nonostante la scoperta delle proprietà elettriche del cervello sia avvenuta nel corso della seconda metà del XIX secolo per merito di Richard Caton, la storia dell’elettroencefalografia inizia solamente nel XX secolo. La scoperta dell’elettroencefalografia viene accreditata allo psichiatra tedesco Hans Berger, che eseguì nel 1924 la prima registrazione di encefalogramma su essere umano. Lo stesso Berger, descrivendo successivamente i risultati della registrazione, impiegò per primo i termini di onde “alfa” e “beta” per descrivere le peculiarità osservate nel tracciato. La natura di queste onde, considerate inizialmente da Berger come frutto di artefatti, venne indagata in maniera più approfondita da altri gruppi di ricerca grazie al diffondersi dell’elettroencefalografia nel mondo (Tudor, et al., 2005).

Oggi la tecnica scoperta da Berger si è largamente affermata sia in ambito clinico che di ricerca. I suoi impieghi comprendono la valutazione della dinamica del funzionamento cerebrale, la determinazione della profondità dell’anestesia durante operazioni chirurgiche, la ricerca sulla percezione visiva, uditiva e le funzioni cognitive superiori (Louis, et al., 2016). Il successo dell’EEG è in larga parte dovuto alla elevata sensibilità temporale, alla sua capacità di cogliere cambiamenti anche subitanei nel funzionamento cerebrale, alla sua ridotta invasività. Nonostante questi vantaggi, l’attività cerebrale registrata dall’EEG è sovrastata da una significativa componente di rumore.

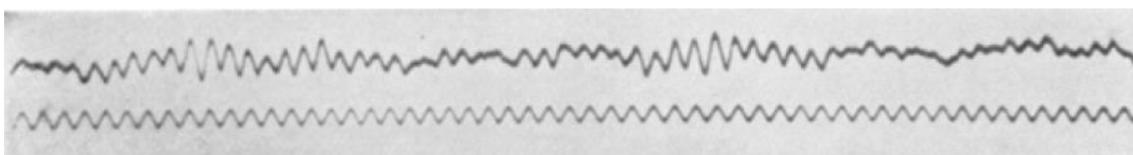


Figura 5 - Primo tracciato EEG ottenuto da Hans Berger nel 1924. Sopra il tracciato, sotto un segnale di timing alla frequenza di 10 Hz.

L'attraversamento da parte del segnale di numerosi strati di tessuto scarsamente conduttivo (fluido cerebrospinale, meningi, cranio, pelle) al fine raggiungere i sensori ne riduce significativamente l'ampiezza. Le interferenze generate da altre attività elettriche di origine biologica (movimenti oculari, elettrocardiogramma, attività muscolare etc.) e dall'ambiente sovrapponendosi al segnale indebolito ne riducono notevolmente la qualità. Al fine di poter impiegare il segnale EEG risulta pertanto necessario mettere in atto strategie che ne consentano la pulizia. Un opportuno impiego di filtri e amplificatori può consentire di eliminare la componente rumorosa al di fuori delle frequenze normalmente interessate dal segnale EEG, amplificando allo stesso tempo la componente di segnale biologica. Allo stesso modo, attraverso tecniche come la *independent component analysis* (*trad.it.* analisi alle componenti indipendenti) possiamo isolare ed eliminare la componente rumorosa di natura biologica.

Fra le diverse tecniche di valutazione della funzionalità del sistema nervoso centrale, l'elettroencefalografia offre il vantaggio di essere una tecnica non invasiva (o minimamente invasiva in alcuni casi). Al contrario di tecniche invasive come l'elettrocorticografia (*abbr.* ECOG) e la stereo elettroencefalografia (*abbr.* SEEG), l'EEG può essere impiegata nella pratica clinica di routine con minime precauzioni. Come anticipato, il vantaggio derivante dalla non invasività dell'EEG si accompagna al costo di un segnale sensibile a processi di deterioramento che si verificano inevitabilmente a causa della distanza fra sensore e sorgenti del segnale. Da un punto di vista architettonico, un tipico EEG multicanale si costituisce di diversi blocchi, che includono filtri, amplificatori, nonché convertitori analogico-digitali. Il segnale è prelevato dall'elettroencefalografo mediante elettrodi. Gli elettrodi impiegati possono essere di tre tipologie differenti, ognuna con i propri vantaggi e svantaggi: elettrodi a coppetta (elettrodi dalla forma concava e dotati di un foro in posizione centrale; in oro o argento, hanno un diametro di circa 1cm), cuffie con elettrodi premontati (cuffie elasticizzate con elettrodi forati disposti

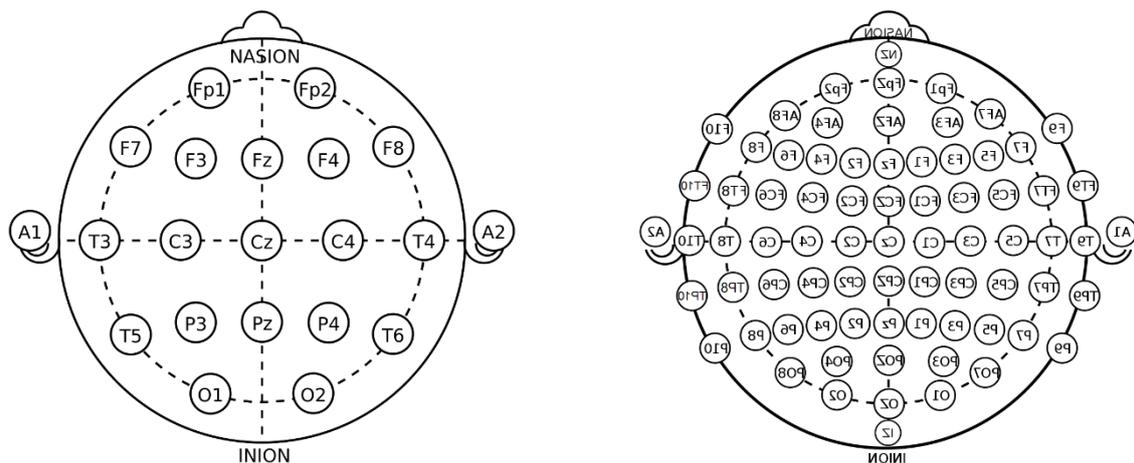


Figura 6 - Disposizione degli elettrodi negli standard internazionali 10-20 (sinistra) e 10-10 (destra).

in posizioni standardizzate), elettrodi ad ago ipodermico (elettrodo con forma di ago della lunghezza di 1-2 cm in acciaio o platino, vengono introdotti sotto il cuoio capelluto). La disposizione degli elettrodi è standardizzata. Al momento della scrittura, gli standard esistenti sono tre: Standard Internazionale 10-20, Standard Internazionale 10-10, Standard Internazionale 10-5. La coppia di numeri che accompagna ciascuno standard indica la distanza relativa fra gli elettrodi: nel caso dello standard 10-20, ad esempio, indicano il 10% e 20% delle distanze fra Nasion (la depressione, appena al di sotto della glabella, dove si incontrano gli ossi frontale e nasali) e Inion (estremo della protuberanza occipitale esterna) e i Punti Pre-Auricolari (punti situati anteriormente al trago) Sx e Dx. Gli standard differiscono fra loro per il numero di elettrodi impiegati e per la posizione (per quanto siano presenti elettrodi condivisi fra standard diversi). Gli elettrodi sono collegati all'EEG multicanale mediante una morsettiere (*jack box*). I segnali provenienti dagli elettrodi sono combinati dal selettore di montaggio al fine di realizzare coppie differenziali da inviare ai preamplificatori. Tipici montaggi impiegati sono bipolari (differenza fra coppie di elettrodi adiacenti), unipolari rispetto ad un riferimento fisico (uno degli elettrodi auricolari, siccome i lobi sono pressoché elettricamente neutri), unipolari rispetto alla media degli elettrodi (si può impiegare sia la media dei soli elettrodi auricolari che di tutti gli elettrodi). Stadi di filtraggio e amplificazione si susseguono consentendo di migliorare il rapporto segnale rumore di passare ad un segnale di tipo digitale, aprendo le strade di molteplici elaborazioni.

Riguardo al segnale acquisito, l'EEG non misura né i potenziali di azione generati dai singoli neuroni né la loro somma (o *local field potential*). Il segnale EEG, in particolare, è dato dalla somma dei potenziali post-sinaptici. A generare i potenziali post-sinaptici osservati tramite EEG sono i neuroni piramidali all'interno della corteccia disposti perpendicolarmente alla superficie del cervello. In presenza di attività sinaptica, nei dendriti dei neuroni piramidali si generano dei flussi di corrente assimilabili a quelli che si verificano nei dipoli di corrente elettrica. Ogni dipolo genera un campo elettrico che si somma ai campi elettrici dei neuroni adiacenti. Se il numero di neuroni contemporaneamente attivi è sufficientemente elevato, il segnale elettrico che ne deriva può essere rilevato in superficie. L'EEG è quindi in grado di rilevare la somma delle attività di larghi gruppi di neuroni che si attivano in maniera sincrona. Proprio in virtù

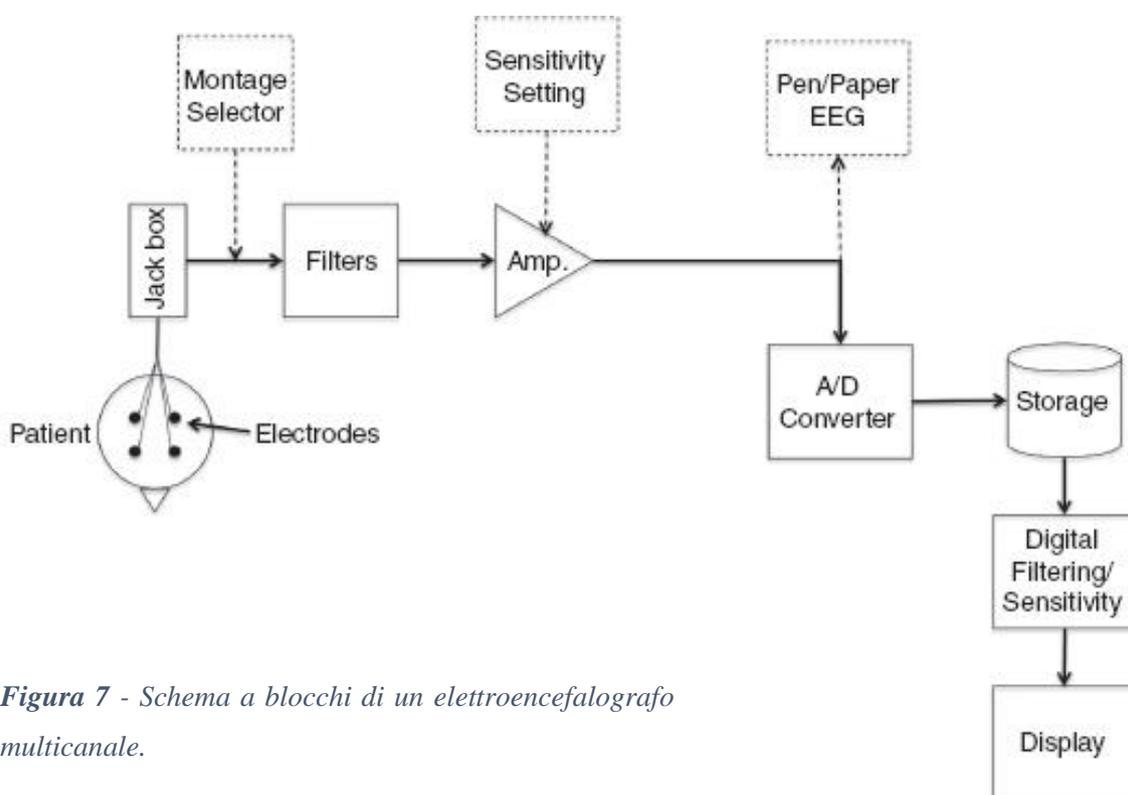


Figura 7 - Schema a blocchi di un elettroencefalografo multicanale.



Figura 8 - Esempio di tracciato ottenuto tramite elettroencefalografo multicanale. Sulle ordinate le coppie differenziali di elettrodi.

della sua natura, nel segnale EEG risulta impossibile apprezzare il contributo derivante dalla attivazione dai singoli neuroni. Risulta allora più utile considerare le attività in corrispondenza dei singoli elettrodi come il frutto di generatori neurali (gruppi di neuroni) in specifiche regioni corticali di interesse. Il cosiddetto “problema inverso” (che tratteremo più avanti) consiste proprio in questo: a partire dai segnali registrati in corrispondenza degli elettrodi, determinare quali generatori neurali, disposti in posizioni specifiche, si sono combinati determinando la forma assunta.

Capitolo 5 – Lo stato corrente della ricerca

Fin dalla sua prima definizione nei lavori di Asperger e Kanner, l'autismo ha suscitato e continua a suscitare un grande interesse in campo neuroscientifico. Verso la fine del XX secolo, l'introduzione nelle neuroscienze di approcci derivanti dall'economia e dalla teoria dei grafi ha consentito di allargare considerevolmente gli orizzonti della ricerca sul funzionamento del cervello. La causalità di Granger (Granger, 1969), inizialmente definita limitatamente allo studio della relazione di causalità in serie temporali in ambito economico, si è ormai affermata nel campo delle neuroscienze come strumento per il calcolo della connettività fra regioni differenti del cervello. Allo stesso modo, sono sempre più i lavori che prevedono l'applicazione della teoria dei grafi (Stam, 2004) (Astolfi, et al., 2007) (Sakkalis, et al., 2006) (Deshpande, et al., 2009) per fornire una ulteriore interpretazione ai dati ottenuti elaborando le registrazioni dell'attività cerebrale.

Lo studio della connettività cerebrale in diversi e recenti studi ha consentito di identificare l'esistenza di un legame fra anomalie nella connettività e i sintomi dello spettro autistico. Facendo ricorso alla risonanza magnetica funzionale, Dimond et al (Dimond, et al., 2019) hanno osservato in diverse zone una riduzione nella densità delle fibre di materia bianca nel caso di soggetti con DSA, evidenziando così una riduzione della connettività dal punto di vista strutturale. Diversi autori (Ye, et al., 2014) (Coben, et al., 2014) (Simon & Wallace, 2016) (Kessler, et al., 2016), ricorrendo sia ad elettroencefalografia che magnetoencefalografia, hanno identificato le alterazioni nella connettività come affidabili *biomarker* di DSA. Nonostante i risultati ottenuti da alcuni gruppi sembrano puntare nella direzione dell'associazione dei DSA con una connettività ridotta, il dibattito è ancora in larga parte aperto. Infatti, alcuni autori (Supekar, et al., 2013) hanno riportato anche evidenze di una tendenza opposta, ovvero di una iperconnettività in presenza di DSA. L'apparente contraddizione nei risultati potrebbe essere spiegata considerando la direzione delle connessioni coinvolte. Una prevalenza nella rappresentazione delle vie *bottom-up* rispetto a quelle di tipo *top-down* potrebbe essere effettivamente presente in soggetti affetti da DSA, come suggerito da precedenti studi (Amso, et al., 2014) (Karvelis, et al., 2018). A sostegno di questa tesi Takesaki et al. (Takesaki, et al., 2016) riportano un legame fra l'aumento di connettività occipito-frontale

e un incremento delle performance nello svolgimento di compiti visivi in soggetti con DSA. Studi su popolazioni con DSA effettuati tramite MEG da Khan (Khan, et al., 2015) e Mamashli (Mamashli, et al., 2021) riportano allo stesso modo connettività *feedforward* più elevate, a scapito di vie *feedback* indebolite. Una prevalenza della connettività *bottom-up* al crescere del tratto autistico sembrerebbe essere suggerita anche da Tarasi et al. (Tarasi, et al., 2021).

Questa tesi prosegue il lavoro avviato da Tarasi et al. e recentemente pubblicato sulla rivista *Brain Sciences*. Nel loro lavoro Tarasi et al. propongono uno studio della connettività (calcolata per mezzo della causalità di Granger) in soggetti con grado variabile di tratto autistico. In linea con il lavoro di Tarasi et al., propongo qui di studiare come la connettività cerebrale funzionale varia con il tratto autistico. Ad essere presa in esame sarà la popolazione generale, non forme cliniche di autismo. La scelta di prendere in considerazione la popolazione generale, rispetto a casi clinici, offre il vantaggio di approfondire la conoscenza dei meccanismi sottostanti l'autismo, escludendo allo stesso tempo fattori che potrebbero altrimenti alterare i risultati ottenuti come medicinali, cronicità e comorbidità. Ciononostante, i benefici derivanti da tale scelta sono inevitabilmente accompagnati da altrettanto importanti limiti. Pur potendo supporre che le peculiarità nell'organizzazione del cervello osservabili in pazienti con DSA permangano, in maniera minore, nei soggetti con elevato tratto autistico, sono assenti chiare evidenze che supportino la validità di questa assunzione. Tenendo presenti questi limiti, lo studio che propongo si pone l'obiettivo di analizzare, come suggerito in precedenza, le eventuali differenze di connettività fra soggetti con differente entità di tratto autistico. Seguendo il percorso tracciato dalla letteratura, nel corso del lavoro ricorrerò a tecniche ormai entrate a far parte della prassi quali la connettività di Granger. Allo stesso tempo, adattandomi alle peculiarità dei dati a disposizione, tenterò di proporre strategie differenti da quelle comunemente adottate in letteratura. Un esempio di ciò sarà costituito dalla scelta di adottare una connettività di Granger di tipo temporale, a scapito della ben più comune connettività di Granger spettrale. Prendendo poi ispirazione dai lavori di diversi autori, ricorrerò ad alcuni concetti derivati dalla teoria dei grafi al fine di poter fornire una interpretazione quanto più sintetica possibile dei risultati ottenuti.

Capitolo 6 – Materiale e metodi

In questo capitolo si presentano le modalità di ottenimento dei dati e i procedimenti attraverso cui è avvenuta la loro elaborazione. I test somministrati, l'acquisizione dei tracciati EEG, nonché il loro processing sono avvenuti in maniera concorde con quanto riportato nel lavoro di Tarasi et al. (Tarasi, et al., 2021), a cui questo studio fa riferimento.

6.1 Partecipanti

Quaranta partecipanti hanno preso parte allo studio. Tutti hanno firmato un consenso informato prima di prendere parte allo studio, approvato dal Comitato di Bioetica dell'Università di Bologna e condotto in accordo con la Dichiarazione di Helsinki. Tutti i partecipanti non erano affetti da disturbi psichiatrici o neurocognitivi. I partecipanti hanno completato il test *Autism-Spectrum Quotient* (Baron-Cohen, et al., 2001), composto da 50 quesiti e finalizzato a misurare i tratti autistici nella popolazione. Il quoziente si divide in cinque categorie riferite a differenti domini coinvolti dal ASD: comunicazione (*communication*), immaginazione (*imagination*), competenza sociale (*social skills*), attenzione ai dettagli (*attention to detail*) e cambio di compito (*attention switching*). Un punteggio globale viene ottenuto dalla aggregazione dei punteggi ottenuti nelle singole aree. Il punteggio globale è compreso fra 0 e 50, associando a valori

<i>Soggetto</i>	<i>Score</i>	<i>Soggetto</i>	<i>Score</i>
<i>Sogg1</i>	19	<i>Sogg21</i>	19
<i>Sogg2</i>	7	<i>Sogg22</i>	31
<i>Sogg3</i>	24	<i>Sogg23</i>	13
<i>Sogg4</i>	11	<i>Sogg24</i>	22
<i>Sogg5</i>	7	<i>Sogg25</i>	16
<i>Sogg6</i>	21	<i>Sogg26</i>	18
<i>Sogg7</i>	13	<i>Sogg27</i>	22
<i>Sogg8</i>	21	<i>Sogg28</i>	8
<i>Sogg9</i>	9	<i>Sogg29</i>	26
<i>Sogg10</i>	25	<i>Sogg30</i>	17
<i>Sogg11</i>	8	<i>Sogg31</i>	25
<i>Sogg12</i>	17	<i>Sogg32</i>	25
<i>Sogg13</i>	13	<i>Sogg33</i>	15
<i>Sogg14</i>	17	<i>Sogg34</i>	14
<i>Sogg15</i>	9	<i>Sogg35</i>	9
<i>Sogg16</i>	4	<i>Sogg36</i>	27
<i>Sogg17</i>	11	<i>Sogg37</i>	16
<i>Sogg18</i>	9	<i>Sogg38</i>	13
<i>Sogg19</i>	13	<i>Sogg39</i>	21
<i>Sogg20</i>	11	<i>Sogg40</i>	19

Tabella 1 - Punteggi individuali dei 40 partecipanti nel test ASO.

elevati dei livelli elevati di tratto autistico. Un punteggio di soglia pari a 26 fornisce una sensibilità e specificità tali da classificare correttamente l'83% dei pazienti (Woodbury-Smith, et al., 331-335). Ai fini di questo studio si è impiegato il solo punteggio globale fornito dal test AQ. Inoltre, si è adottata la versione italiana del test AQ (Ruta, et al., 2012). Il partecipante con il massimo punteggio ottenuto nel test ha totalizzato un punteggio globale di 31. Il punteggio minimo registrato è pari a 4. Il punteggio medio è 16.1 (deviazione standard ± 6.5). Ai fini dello studio, i partecipanti sono stati divisi in due gruppi stabiliti sulla base del punteggio medio ottenuto da individui sani nel test AQ (Ruzich, et al., 2015): *high score* (punteggio pari o superiore a 17, 19 soggetti totali) e *low score* (punteggio inferiore a 17, 21 soggetti totali). Nel corso del testo farò alternativamente ricorso termini come “gruppo ad alto/basso tratto autistico” e “alto/basso score” per distinguere questi gruppi.

6.2 Acquisizione dell'EEG e *pre-processing*

In una stanza con luci soffuse, l'EEG dei partecipanti è stato registrato a riposo per due minuti, mentre i soggetti tenevano gli occhi chiusi. Un set di 64 elettrodi montati secondo lo standard internazionale 10-20 è stato impiegato ai fini della registrazione. L'EEG è stato registrato impiegando come riferimento il vertice (Cz). Tutte le impedenze sono state mantenute sotto il valore di 10 kOhm. I segnali sono stati acquisiti ad una frequenza di campionamento pari a 1000 Hz. L'elaborazione è stata realizzata attraverso script di MATLAB (ver. R2021b) customizzati e il toolbox EEGLAB (Delorme & Makeig, 2004). Le registrazioni EEG sono state filtrate *offline* nella banda 0.5-70 Hz. I segnali sono stati ispezionati

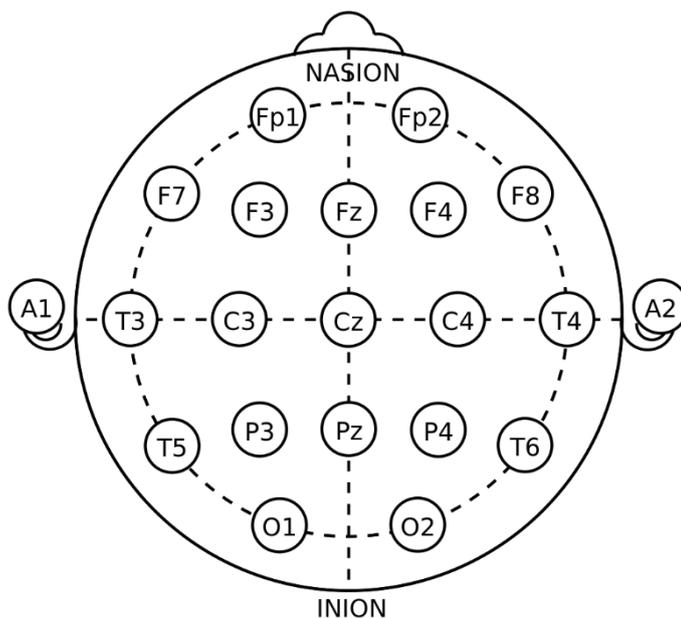


Figura 9 - Disposizione degli elettrodi nello Standard Internazionale 10-20

riferiti alla media degli elettrodi. Al fine di rimuovere gli artefatti presenti è stata impiegata l'Analisi alle Componenti Indipendenti. Le componenti contenenti segnali chiaramente distinguibili da segnali di origine cerebrale sono state sottratte dai dati.

6.3 Ricostruzione delle Sorgenti Corticali e definizione delle ROI

Ai fini della analisi della connettività, a partire dai segnali EEG sono state ricostruite le sorgenti corticali. Con sorgenti corticali si indicano qui delle regioni all'interno della corteccia cerebrale, nelle quali viene valutata l'attività sincrona di gruppi di neuroni piramidali. La ricostruzione delle sorgenti corticali richiede la risoluzione del problema inverso che provvederò ad illustrare di seguito.

Con “problema inverso” si denota la ricerca della distribuzione di corrente che ha dato origine alle misure effettuate sullo scalpo ad un certo istante di tempo t . Indicata con $\vec{J}_p(\vec{r}, t)$ tale distribuzione di densità di corrente, questa sarà frutto del contributo di un certo numero n di dipoli localizzati in posizioni specifiche:

$$\vec{J}_p(\vec{r}, t) = \sum_{j=1}^n \vec{q}_j(t) \delta(\vec{r} - \vec{r}_{q_j})$$

dove \vec{q}_j indica il j -esimo dipolo di corrente, \vec{r}_{q_j} la sua posizione, mentre la delta $\delta(\vec{r} - \vec{r}_{q_j})$ identifica la posizione del dipolo rispetto ad una specifica posizione \vec{r} sulla corteccia presso la quale si sta osservando la distribuzione di corrente al tempo t .

Il potenziale osservato in corrispondenza di un singolo elettrodo in posizione \vec{r}_i risulterà essere:

$$m(\vec{r}_i, t) = \sum_{j=1}^n \vec{g}(\vec{r}_i, \vec{r}_{q_j}) \vec{q}_j(t)$$

dove $\vec{g}(\vec{r}_i, \vec{r}_{q_j})$ è l'elemento di posizione (i, j) della matrice di guadagno, che illustra come i dipoli di corrente si combinano linearmente per determinare il potenziale all'elettrodo.

Disporre di un modello diretto che ci consenta di mappare le sorgenti nei sensori EEG impiegati è un requisito fondamentale alla risoluzione del problema inverso. In questo modello il campo elettro-magnetico di origine fisiologica potrà essere descritto convenientemente attraverso le equazioni di Maxwell (Gratny, et al., 2017). Nel modello impiegato si approssimerà la permeabilità dei tessuti a quella dello spazio libero. La geometria scelta per la testa e la conduttività elettrica sono determinanti in quello che sarà

il modello diretto impiegato. All'interno del volume cerebrale che descrivo, la densità di corrente totale è data dalla somma di due componenti:

$$\vec{J} = \vec{J}_p + \vec{J}_v$$

Queste due componenti descrivono rispettivamente una densità di corrente primaria (\vec{J}_p) e una di volume (\vec{J}_v). Ognuna di queste correnti richiede una differente modellazione. Nel caso della corrente primaria, questa sarà descritta come generata da una sorgente puntiforme:

$$\vec{J}_p = \vec{q}\delta(\vec{r} - \vec{r}_q)$$

Dove \vec{q} è un momento di dipolo di corrente che modella il potenziale post-sinaptico di una macro-colonna, \vec{r} è una posizione generica all'interno dello spazio, mentre \vec{r}_q indica la posizione del dipolo di corrente generante la corrente primaria. La corrente di volume modella gli effetti che il campo elettrico ha sui portatori di carica extra-cellulari:

$$\vec{J}_v = \sigma(\vec{r})\vec{e}(\vec{r}) = -\sigma(\vec{r})\nabla v(\vec{r})$$

Dove la modellazione ricorre alla legge di Ohm, in si indica con σ la connettività del mezzo, \vec{e} il campo elettrico generato dal dipolo che può essere equivalentemente scritto come l'opposto del gradiente del potenziale elettrico. Quanto si è interessati a determinare mediante la risoluzione del problema inverso è la sola densità di corrente primaria \vec{J}_p che tuttavia si combina, come osserviamo nel problema diretto, alla corrente di volume \vec{J}_v . Volendo dunque arrivare ad una formulazione che stabilisca una relazione fra la corrente primaria e le altre correnti si dovrà procedere sostituendo le formule ottenute per le densità di corrente nella densità di corrente totale e applicando la divergenza:

$$\nabla \cdot (\vec{J}) = \nabla \cdot (\vec{q}\delta(\vec{r} - \vec{r}_q)) - \nabla \cdot (\sigma(\vec{r})\nabla v(\vec{r}))$$

Data la condizione di quasi stazionarietà $\nabla \cdot (\vec{J}) = 0$, si ottiene la seguente equazione alle derivate parziali:

$$\nabla \cdot (\vec{q}\delta(\vec{r} - \vec{r}_q)) = \nabla \cdot (\sigma(\vec{r})\nabla v(\vec{r}))$$

Che descrive nella sua interezza il problema diretto, consentendo di ottenere attraverso la sua risoluzione i potenziali elettrici generati da una corrente primaria. All'interno dell'equazione riportata, in $\sigma(\vec{r})$, ovvero il profilo di connettività, si concentra l'informazione sulla geometria della testa e i materiali scelti per modellarla. Dal punto di vista dei materiali, ai materiali realizzanti il modello della testa è assegnata una

connettività, ottenuta o tramite misure in vitro o in alternativa tramite misure in vivo come EIT (*electrical impedance tomography*). Queste connettività possono essere assunte isotrope, ma talvolta vengono anche adottate delle connettività anisotrope. I modelli di testa impiegati possono avere complessità variabili, andando da tre sfere concentriche (una per il cervello, una per il cranio e una per lo scalpo), fino a complessi modelli ottenuti dalla segmentazione di immagini anatomiche. Come vedremo successivamente, questo lavoro fa ricorso specificatamente a un modello di testa della seconda categoria.

La risoluzione del problema inverso al fine di determinare la distribuzione di corrente che ha generato i dati avviene per mezzo di metodi di stima che fanno capo a due gruppi: metodi di stima parametrici e metodi di stima non parametrici. I metodi di stima parametrici si basano sull'assunzione che i potenziali registrati siano dovuti ad un numero ridotto di dipoli dalla posizione e dall'orientamento ignoti. Per risolvere il problema della stima delle sorgenti, i metodi parametrici risolvono un problema di tipo non lineare. Fra questi metodi si menzionano: stima della sorgente ai minimi quadrati, approcci *beamforming*, *multiple-signal classification algorithm*. Al contrario, i metodi di stima non parametrici assumono un numero di dipoli fisso ed elevato, disposti in corrispondenza dei nodi della tassellatura della testa. Fra questi metodi rientrano LORETA e sLORETA, metodo impiegato in questo lavoro.

Allo scopo di ricostruire le sorgenti corticali si è impiegato il *toolbox* MATLAB Brainstorm (Tadel, et al., 2011)¹. Il template di modello di testa (ICBM 152 MINI template) implementato dal software OpenMEEG (Gramfort, et al., 2010) è stato impiegato mediante Boundary Element Method per risolvere il problema diretto (ovvero l'operazione che consiste nel mappare le sorgenti in un array di sensori EEG). Il modello di testa fornisce tre strati rappresentativi rispettivamente dello scalpo, delle superfici di cranio interno e cranio esterno, nonché una informazione anatomica realistica. Attraverso l'algoritmo sLORETA (*standardized Low Resolution Tomography*) si è effettuata la stima delle sorgenti corticali. sLORETA è una tecnica di imaging funzionale della famiglia delle soluzioni lineari inverse per la modellazione di distribuzioni 3D di sorgenti EEG (Pascual-Marqui, 2002). L'algoritmo sLORETA calcola la soluzione di minima norma.

¹ Brainstorm (Tadel, et al., 2011) è documentato e liberamente disponibile online per il download sotto GNU General Public License (<http://neuroimage.usc.edu/brainstorm>).

Le soluzioni sono istantanee, distribuite, discrete, lineari, con errore di localizzazione di dipolo assente in condizioni di idealità (assenza di rumore). La stima delle sorgenti è avvenuta modellando i dipoli come orientati perpendicolarmente alla superficie della corteccia (orientamento dei dipoli vincolato, normale alla corteccia). Per ognuno dei 40 soggetti sono state così ricostruite le serie temporali delle densità di corrente dei dipoli (15002 dipoli disposti ortogonalmente alla corteccia in corrispondenza dei suoi 15002 voxel). I voxel sono stati quindi raggruppati in regioni in accordo con l'atlante Desikan-Killiany (Desikan, et al., 2006). L'atlante Desikan-Killiany è composto da 68 Regioni di Interesse (ROI) ed è fornito da Brainstorm. Una lista delle regioni di interesse con le abbreviazioni da noi impiegate è riportata in tabella [2].

L'attività corticale per una ROI è stata ottenuta dalla media delle attività in corrispondenza dei dipoli appartenenti a questa, senza tenere conto della direzione delle attività. Le serie temporali per le 68 ROI per ciascuno dei 40 sono state esportate in MATLAB e salvate in formato *.mat* per le successive elaborazioni.

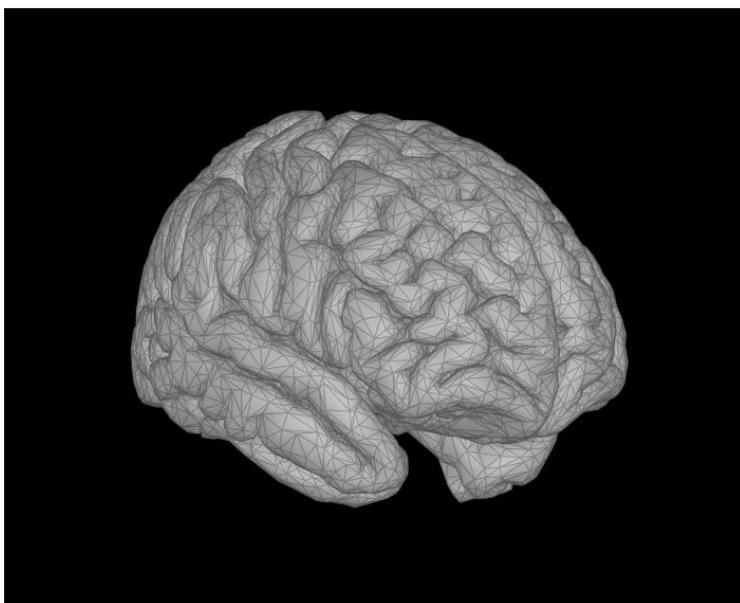


Figura 10 - Tassellatura del cervello fornita da Brainstorm. Il numero di voxel impiegati sono 15002. I dipoli di corrente vengono assunti disposti ortogonalmente agli edge della tassellatura.

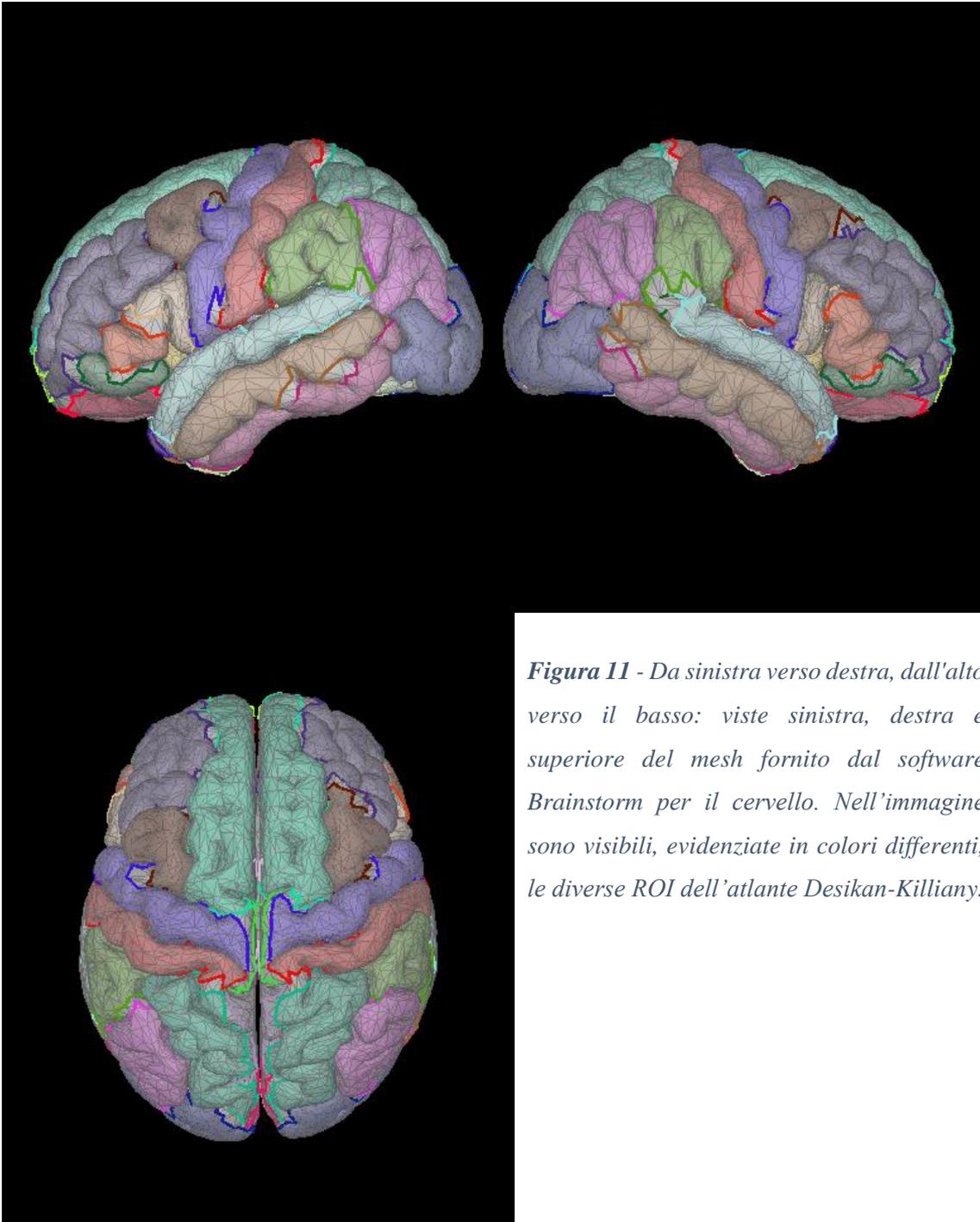


Figura 11 - Da sinistra verso destra, dall'alto verso il basso: viste sinistra, destra e superiore del mesh fornito dal software Brainstorm per il cervello. Nell'immagine sono visibili, evidenziate in colori differenti, le diverse ROI dell'atlante Desikan-Killiany.

ROI	Abbr.	ROI	Abbr.
<i>Banks of Sup. Temp. Sulcus</i>	BK	<i>Parahippocampal</i>	PH
<i>Caudal Anterior Cingulate</i>	cAC	<i>Pars Opercularis</i>	pOP
<i>Caudal Middle Frontal</i>	cMF	<i>Pars Orbitalis</i>	pOR
<i>Cuneus</i>	CU	<i>Pars Triangularis</i>	pTR
<i>Entorhinal</i>	EN	<i>Pericalcarine</i>	PCL
<i>Frontal Pole</i>	FP	<i>Postcentral</i>	POC
<i>Fusiform</i>	FU	<i>Posterior Cingulate</i>	PCG
<i>Inferior Parietal</i>	IP	<i>Precentral</i>	PRC
<i>Inferior Temporal</i>	IT	<i>Precuneus</i>	PCU
<i>Insula</i>	IN	<i>Rostral Anterior Cingulate</i>	rAC
<i>Isthmus Cingulate</i>	IST	<i>Rostral Middle Frontal</i>	rMF
<i>Lateral Occipital</i>	LO	<i>Superior Frontal</i>	SF
<i>Lateral Orbitofrontal</i>	IOF	<i>Superior Parietal</i>	SP
<i>Lingual</i>	LG	<i>Superior Temporal</i>	ST
<i>Medial Orbitofrontal</i>	mOF	<i>Supramarginal</i>	SMG
<i>Middle Temporal</i>	MT	<i>Temporal Pole</i>	TP
<i>Paracentral</i>	PAC	<i>Transverse Temporal</i>	TT

Tabella 2 - Lista delle 34 ROI definite dall'atlante Desikan-Killiany e corrispondenti abbreviazioni impiegate. In virtù della simmetria del cervello, ogni ROI è presente sia nel lobo sinistro che nel lobo destro, risultando quindi complessivamente in 64 ROI.

6.4 Analisi della Causalità di Granger

Le serie temporali ottenute dalla ricostruzione delle sorgenti sono state sottoposte alla analisi della causalità di Granger. Il concetto di causalità di Granger, introdotto per la prima volta in economia da Clive Granger negli anni '60 (Granger, 1969), dalla fine degli anni '90 sta assistendo a una crescente diffusione all'interno delle neuroscienze. Secondo il concetto di causalità di Granger, un certo segnale X è detto "Granger causa" di un segnale Y se la storia di X contiene delle informazioni in grado di migliorare la predizione dei valori futuri Y , rispetto ad una predizione basata sulla storia di Y . Alla base della causalità di Granger giace l'irrefutabile imposizione che la causa agisca prima dell'effetto (fondamento comune a molte definizioni di causalità), ovvero che il futuro non possa essere causa del passato (Granger, 1980) (Granger, 2001). Per quanto nel testo si definirà un certo segnale "causa" di un altro, intendendo con "causa" la "Granger causa", è importante ricordare che la causalità di Granger non è una causalità reale. In virtù della sua natura di non reale causalità, la causalità di Granger è vulnerabile a due distinti problemi: in primo luogo, se la connessione causale fra due variabili è mediata da una terza, una relazione di Granger causalità potrebbe essere individuata fra di essi, nonostante il segnale "causa" agisca sulla sola variabile intermedia (e non sul segnale "effetto"); in secondo luogo, se una prima variabile guida sia una seconda che una terza variabile e la seconda variabile è soggetta ad un ritardo inferiore, questa potrebbe contenere informazione utile a predire la terza ed essere, erroneamente interpretata come sua causa (Cekic, et al., 2018).

Da un punto di vista matematico la causalità di Granger può essere definita come segue (Seth, 2007). Si considerino le due equazioni per le variabili auto-regressive X_1 e X_2 al tempo t (dove la variabile di tempo è discretizzata, assumendo quindi valori interi):

$$X_1(t) = \sum_{j=1}^p A_{11,j} X_1(t-j) + E_1(t)$$
$$X_2(t) = \sum_{j=1}^p A_{22,j} X_2(t-j) + E_2(t)$$

dove p rappresenta il numero totale di osservazioni incluse nel modello (ordine del modello), A la matrice dei coefficienti del modello, E_1 e E_2 sono i residui (o errori di predizione). Se l'inclusione di X_2 all'interno della prima equazione (rispettivamente di X_1 all'interno della seconda equazione) consente di ridurre la varianza del residuo E_1 (risp.

E_2), allora si dirà che X_2 è “Granger causa” di X_1 (risp. X_1 è causa di X_2). Supponiamo dunque che X_2 è “Granger causa” di X_1 , X_1 potrà essere predetta nella maniera seguente:

$$\hat{X}_1(t) = \sum_{j=1}^p \hat{A}_{11,j} X_1(t-j) + \sum_{j=1}^p \hat{A}_{12,j} X_2(t-j) + E_{12}(t)$$

la relazione di causalità implicherà che i coefficienti di A_{12} siano significativamente diversi da 0, verificabile attraverso F-test della ipotesi nulla. La magnitudine della connettività può essere quindi ottenuta tramite il seguente logaritmo:

$$GC_{2 \rightarrow 1} = \ln \frac{var\{E_1\}}{var\{E_{12}\}}$$

Attraverso il metodo di Fourier è possibile esaminare la causalità di Granger anche nel dominio della frequenza (Geweke, 1982). La causalità spettrale è frequentemente impiegata per i segnali neurofisiologici, dove l’interesse è spesso rivolto a specifiche bande di frequenze. Riprendendo le variabili X_1 e X_2 e supponendo che X_2 sia Granger-causa di X_1 , la causalità spettrale misura il contributo di X_2 nel determinare la potenza totale di X_1 alla frequenza f . Da un punto vista matematico, trasformando secondo Fourier il modello auto-regressivo illustrato in precedenza possiamo ottenere:

$$\begin{pmatrix} \hat{A}_{11}(f) & \hat{A}_{12}(f) \\ \hat{A}_{21}(f) & \hat{A}_{22}(f) \end{pmatrix} \begin{pmatrix} X_1(f) \\ X_2(f) \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} E_1(f) \\ E_2(f) \end{pmatrix}$$

Dove le componenti della matrice \hat{A} sono ottenute come:

$$\hat{A}_{lm}(f) = \delta_{lm} - \sum_{j=1}^p \hat{A}_{lm}(j) e^{-i2\pi f j}$$

$$\delta_{lm} = 0 \quad (l = m)$$

$$\delta_{lm} = 1 \quad (l \neq m)$$

La relazione fra X ed E è riscritta in maniera tale da mettere in evidenza la matrice di trasferimento H :

$$\begin{pmatrix} X_1(f) \\ X_2(f) \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} H_{11}(f) & H_{12}(f) \\ H_{21}(f) & H_{22}(f) \end{pmatrix} \begin{pmatrix} E_1(f) \\ E_2(f) \end{pmatrix}$$

La matrice di trasferimento H è uguale all’inverso della matrice \hat{A} :

$$H = \hat{A}^{-1}$$

La matrice spettrale per X è ottenuta nella maniera seguente:

$$S(f) = \langle X(f) \bar{X}(f) \rangle = \langle H(f) \Sigma \bar{H}(f) \rangle$$

Dove \bar{X} e \bar{H} corrispondono rispettivamente i complessi coniugati di X e H , Σ è la matrice di covarianza per i residui $E(t)$. La causalità di Granger spettrale da j ad i viene ottenuta a partire dalle grandezze precedenti come:

$$I_{j \rightarrow i}(f) = -\ln \left(1 - \frac{\left(\Sigma_{jj} - \frac{\Sigma_{ij}^2}{\Sigma_{ii}} \right) |H_{ij}(f)|^2}{S_{ii}(f)} \right)$$

Per quanto la connettività spettrale sia stata impiegata in una fase di analisi preliminare dei dati, in questo studio si è fatto solo ricorso ai risultati ottenuti tramite analisi della causalità di Granger temporale. La ragione che ha portato alla esclusione della causalità spettrale di Granger e alla sola adozione della causalità temporale risiede nel comportamento anomalo esibito dai dati nel caso in cui la prima venisse adottata. Per alcuni soggetti si sono osservati in un numero limitato di ROI dei valori di connettività diversi ordini di grandezza più elevati di quelli attesi (la connettività in frequenza in generale non supera valori nell'ordine 10, le anomalie osservate potevano invece raggiungere e superare l'ordine 10^3). La rappresentazione è nelle figure [12] e [13].

L'impiego della connettività di Granger (sia spettrale che temporale) richiede anzitutto la definizione di un ordine per il modello auto-regressivo. Gli approcci alla scelta dell'ordine adottati in letteratura sono diversi. Deshpande et al. (Deshpande, et al., 2009) propongono l'adozione di un ordine uno, sulla base del criterio di informazione di Akaike (Akaike, 1974), derivandone un modello di previsione epoca per epoca. Hesse et al. (Hesse, et al., 2003) calcolano per ciascuno dei soggetti a sua disposizione un ordine (compreso fra 1 e 30) attraverso le equazioni di Yule-Walker, per quindi scegliere sulla base dei risultati di impiegare un ordine 13 per tutti i dati. Nicolaou et al. (Nicolaou, et al., 2012) impiegano un ordine 6, ottenuto dopo aver determinato sulla base del criterio dell'informazione di Byes un ordine per ognuno dei soggetti a sua disposizione. Tarasi et al. (Tarasi, et al., 2021) impiegano un ordine pari a 30, osservando che per ordini superiori i risultati di GC non cambiavano significativamente. Per quanto la possibilità di applicare ad ogni soggetto quello che per esso è il migliore ordine risulti allettante, con l'aumentare delle dimensioni del data set diventa sempre più sentita la necessità di un procedimento automatizzato che realizzi tale ricerca. Tenendo considerazione di ciò, si è reputato più opportuno scegliere un ordine unico da impiegare per tutti i soggetti.

ROI	Abbr.	ROI	Abbr.
<i>Caudal Anterior Cingulate</i>	cAC	<i>Parahippocampal</i>	PH
<i>Cuneus</i>	CU	<i>Posterior Cingulate</i>	PCG
<i>Inferior Parietal</i>	IP	<i>Rostral Anterior Cingulate</i>	rAC
<i>Precuneus</i>	PCU	<i>Superior Frontal</i>	SF
<i>Lingual</i>	LG		

Tabella 3 - Elenco delle 18 selezionate fra le 68 dell'atlante Desikan-Killiany al fine di testare i diversi ordini per la causalità di Granger.

Al fine di determinare un ordine ottimale per la causalità di Granger, per ciascuno dei 40 partecipanti le connettività spettrali e temporali sono state ricavate al variare dell'ordine su 18 ROI (tabella [3]) definite fra le 68 presenti nell'atlante Desikan-Killiany. Il calcolo della connettività è stato effettuato attraverso script MATLAB customizzati ottenuti a partire da quelli forniti all'interno del *toolbox* Brainstorm. L'ordine è stato fatto variare con un passo di 5 da un valore minimo di 5 ad un valore massimo di 60. Per ognuno dei 40 soggetti sono stati ottenuti i seguenti dati al variare dell'ordine: connettività temporale, connettività spettrale, e densità spettrale di potenza. Per ciascuno dei soggetti, la densità spettrale di potenza ottenuta per mezzo di Granger è stata paragonata con la densità spettrale di potenza ottenuta tramite metodo di Welch (fornito da MATLAB mediante funzione). Oltre ad un paragone visivo fra gli spettri, si è provveduto a calcolare la differenza quadratica media fra le due densità spettrali di potenza nella banda di frequenza 3-20 Hz. A partire dalle differenze quadratiche medie sono state ottenute le medie per le aree frontali, centrali, occipitali e totale, opportunamente rappresentate graficamente nel loro valore al variare dell'ordine. Le connettività spettrali medie in banda totale (4-40 Hz) e temporali sono state rappresentate per coppie di connettività arbitrariamente scelte fra quelle che risultavano presentare le magnitudini più elevate. Impiegando congiuntamente i grafici delle connettività spettrali e delle differenze quadratiche si è stabilito un ordine ottimale di 20 da impiegare per la connettività di Granger.

Stabilito l'ordine ottimale per la connettività di Granger pari a 20, dalle serie temporali dei 40 soggetti si è proceduto a ricavare la connettività di Granger di ordine 20 per tutte e 68 le ROI definite nell'atlante Desikan-Killiany. Per ognuno dei soggetti le

connettività temporali e i valori p sono stati salvati in formato .mat per le successive elaborazioni.

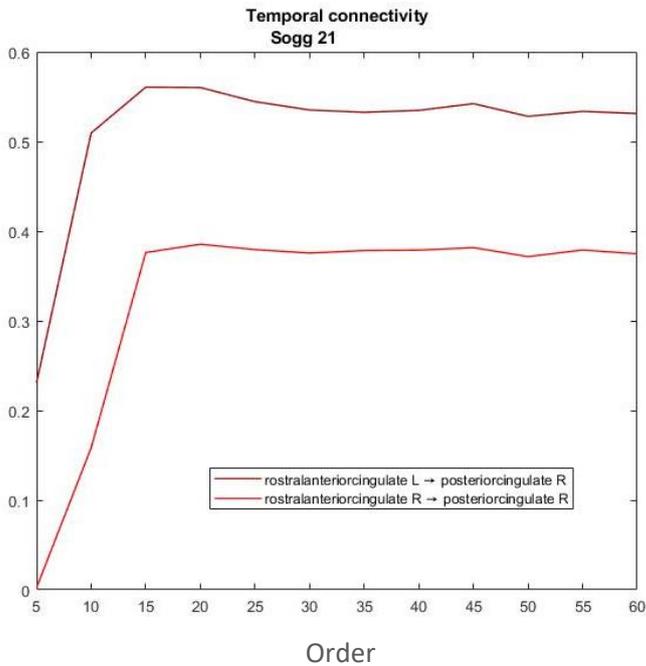
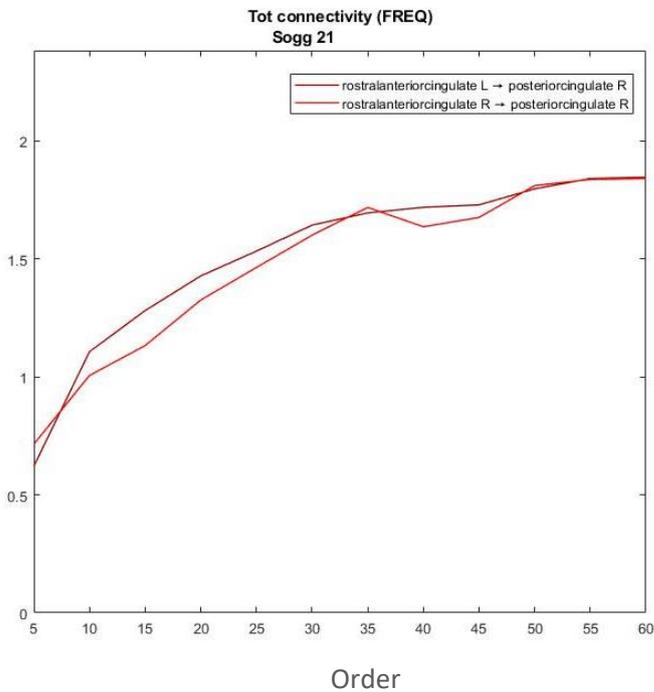


Figura 12 - Connettività temporale e in frequenza (banda totale) per il soggetto 21. La connettività per il soggetto 21 non presenta irregolarità e può pertanto essere presa come esempio di andamento atteso. Come si può osservare, la connettività si stabilizza intorno all'ordine 20.



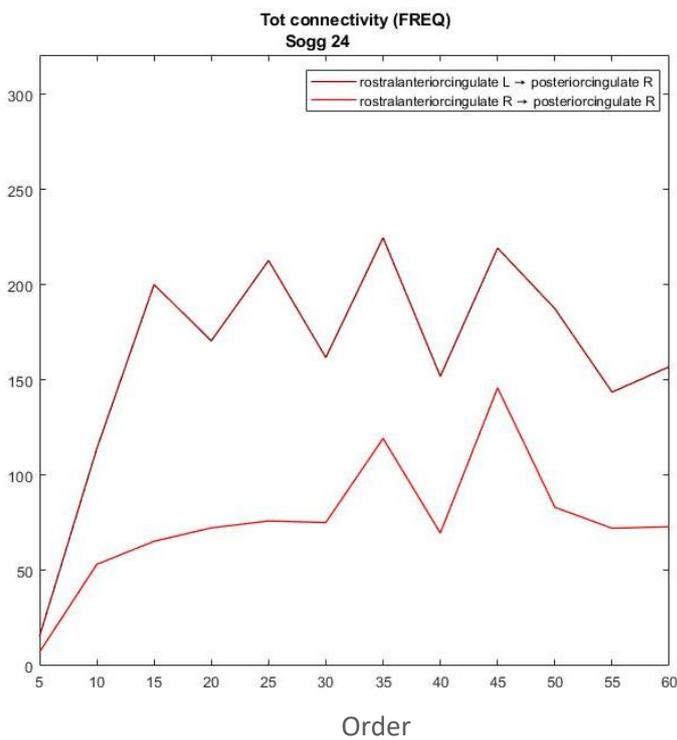
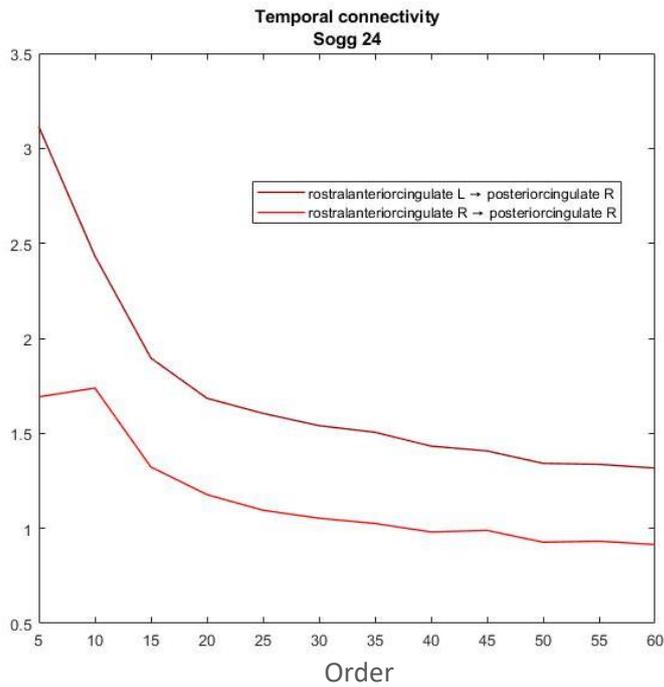


Figura 13 - Connettività temporale e in frequenza (banda totale) per il soggetto 24. Il soggetto 24 presenta un comportamento anomalo sia nel tempo che nella frequenza. Nel tempo l'andamento decresce fino a stabilizzarsi (tipicamente si ha una crescita fino al raggiungimento della stabilità). Nella frequenza si osserva un andamento a dente di sega, oscillante intorno ad un certo valore di connettività. Paragonato al soggetto 21, i valori della connettività in frequenza per il soggetto 24 sono estremamente alti (due ordini di grandezza superiori al valore atteso).

6.5 Analisi statistica

Ai fini dell'analisi statistica, le matrici di connettività ottenute dall'analisi della connettività di Granger sono state opportunamente normalizzate per tutti i 40 soggetti. Per la normalizzazione si è fatto ricorso alla seguente formula:

$$\widetilde{GC}_{k,ROI_i \rightarrow ROI_j} = \frac{GC_{k,ROI_i \rightarrow ROI_j}}{GC_k^{TOT}} \cdot 100; \forall i, j \text{ con } i \neq j$$

dove $GC_{k,ROI_i \rightarrow ROI_j}$ rappresenta la Granger connettività dalla i -esima ROI alla j -esima ROI per il k -esimo soggetto, e GC_k^{TOT} rappresenta la connettività totale per il medesimo che è così definita:

$$GC_k^{TOT} = \sum_i \sum_{j, j \neq i} GC_{k,ROI_i \rightarrow ROI_j}$$

I soggetti sono stati divisi in due gruppi, in base all'entità del tratto autistico: basso tratto (score inferiore a 17) e alto tratto (score superiore o uguale a 17). Per i soggetti così suddivisi le matrici di connettività sono state riorganizzate in vettori di lunghezza pari alle possibili permutazioni (auto anelli esclusi). I vettori sono stati raccolti in matrici di dimensioni pari al numero totale di connessioni (esclusi gli auto-anelli, $68 * 67 = 4556$ connessioni) per il numero di soggetti appartenenti al gruppo (basso, 21, o alto tratto, 19) e salvati in una matrice per essere sottoposti al *permutation test*.

Il *permutation test* è un procedimento che consente di determinare la significatività statistica. Date due variabili aleatorie X_A e X_B , provenienti da due gruppi A e B, e data una ipotesi nulla H_0 (che indica la provenienza dei dati da una medesima distribuzione), il *permutation test*, calcolando la statistica di test per tutte le possibili disposizioni dei dati, consente di rifiutare o meno la ipotesi nulla. Fra le possibili modalità di implementare *permutation_test* rientra il *Monte Carlo testing*. *Monte Carlo testing* consente di implementare in maniera conveniente il *permutation test* qualora siano troppe le possibili permutazioni dei dati. *Monte Carlo testing* risolve il problema legato alla numerosità delle possibili permutazioni limitandosi a prendere un campione N relativamente piccolo di possibili realizzazioni. L'esecuzione di queste N permutazioni consente la stima di un *p value*. Sulla base del *p value* viene stabilito se l'ipotesi nulla può essere o meno respinta. In particolare, definito un valore di soglia α (alfa critico), il rifiuto della ipotesi nulla avviene nel caso in cui $p \leq \alpha$.

Il *permutation test* è stato eseguito sui dati impiegando uno script di MATLAB customizzato dai file disponibili nel toolbox FieldTrip (Oostenveld, et al., 2011). Come approccio per il *permutation test* si è adottato *Monte Carlo testing*. L'esecuzione del *permutation test* ci consente di testare la significatività statistica dei dati (*i.e.* connettività). *Monte Carlo testing*, in virtù della sua natura non parametrica, viene qui impiegato in quanto consente di non effettuare assunzioni sulla modalità in cui si distribuiscono i dati. *Monte Carlo testing* è stato eseguito con un livello di alfa critico pari a 0.05 (*i.e.* viene rifiutata l'ipotesi per un *p value* inferiore a 0.05). Tre esecuzioni sono state portate a termine per valutare i casi *left*, *right*, e *two-sided tail*. Con *left* e *right tail* si indicano qui i due possibili *one-tailed tests*, distinti dal *two-tailed* per l'impiego come zona di rifiuto della ipotesi nulla solamente una delle due code (coda destra della distribuzione nel caso *right*, viceversa sinistra nel caso *left*). L'impiego dei *one-tailed test* consente di ottenere le connessioni significative per i due gruppi (alto e basso score autistico) valutando l'ipotesi nulla su di una sola coda. Le esecuzioni non prevedevano correzione. Il numero di randomizzazioni impartito è 5000. I risultati ottenuti sono stati salvati in formato *.mat* per essere quindi rappresentati graficamente così da poter visualizzare le connessioni significative.

2.6 Misure di centralità

Al fine di determinare le ROI più coinvolte nei soggetti ad alto e basso tratto autistico, sulle connettività temporali sono state eseguite le seguenti misure di *centrality* (*trad.it.* centralità): *in degree*, *out degree*, *betweenness*, *hubness*, *authority*. Le misure sono state eseguite separatamente per i soggetti appartenenti ai due gruppi. Alla matrice di connettività di ciascun soggetto è stata preventivamente applicata la correzione di Bonferroni. La correzione di Bonferroni consiste nel conservare le sole connessioni con *p value* minore del rapporto fra il valore di alfa desiderato (in questo caso 0.5) e il numero totale di ipotesi nulle (in questo caso pari al numero totale di connessioni) ovvero:

$$p < \frac{0.05}{4556}$$

Le misure di centralità emergono nel contesto della teoria dei grafi e analisi delle reti. I grafi sono strutture matematiche finalizzate a modellare le relazioni che esistono fra delle entità. La forma più semplice assunta da un grafo è quella di un diagramma nel

quale dei punti (nodi o vertici) sono uniti a coppie mediante dei collegamenti (a seconda del contesto detti spigoli o archi). Molte situazioni possono essere convenientemente rappresentate per mezzo dei grafi: la comunicazione fra dispositivi all'interno di una rete *wireless*, i legami che esistono fra delle persone, la comunicazione all'interno regioni del cervello. I grafi sono pertanto delle astrazioni matematiche di una situazione, e più nello specifico dei legami che esistono fra certi attori. A seconda delle relazioni i grafici assumono nomi e caratteristiche diverse. Nel caso i collegamenti all'interno di un grafo siano dotati di direzione ma non di verso, il grafo a cui danno forma è un grafo "non orientato" e i legami fra i nodi prende il nome di "spigolo". Nel caso i collegamenti all'interno del grafo siano invece dotati sia di direzione che di verso, il grafo prende il nome di "orientato" e i legami fra i nodi vengono chiamati "archi" o "cammini". Questi legami possono avere ad essi associato un valore o "peso", il grafo (a prescindere che sia o no orientato) sarà detto "pesato". Da un punto di vista matematico, un grafo può essere rappresentato come una matrice, le cui righe rappresentano i nodi di partenza di un collegamento e le cui colonne rappresentano i nodi di arrivo. La matrice, a seconda che il grafo sia o meno pesato, potrà essere popolata di valori binari (indicanti la presenza di legame) oppure dei pesi assunti dai collegamenti. La natura orientata o non del grafo determina le caratteristiche della matrice ad essa associata: grafi del tipo non orientato danno origine a matrici simmetriche, grafi del tipo orientato a matrici prive di simmetria.

La teoria dei grafi fornisce diversi strumenti per manipolare la rappresentazione matriciale del grafo al fine di ricavare delle informazioni sulla rete. Le misure di centralità sono uno di questi strumenti. La finalità delle misure di centralità è quella definire l'importanza di un nodo all'interno della rete. Esistono diversi approcci per determinare la centralità di un nodo, che guardano ad aspetti differenti del nodo all'interno del grafo.

L'applicazione di tecniche provenienti dalla teoria dei grafi non è una novità nel contesto delle neuroscienze, dove diversi autori esplorano da anni la possibilità di trasferirvi metodi di teoria dei grafi (Sporns, 2003). In questo lavoro, in maniera concorde con quanto proposto da autori precedenti (Deshpande, et al., 2009), si interpreta la matrice di connettività come un grafo diretto nel quale agli archi, che congiungono i nodi della rete (ROI), viene assegnato un peso pari al valore assunto dalla connettività temporale. Pertanto, le 40 matrici di connettività temporali derivanti da altrettanti soggetti forniscono un uguale numero di grafi diretti. A questi grafi vengono separatamente applicate le

misure di connettività menzionate in precedenza. Di seguito si introducono brevemente le misure di centralità impiegate.

Con *in degree* e *out degree* si indicano due misure di centralità specifiche dei grafici diretti. *In degree* è una misura degli archi di un grafo entranti in un certo nodo. *Out degree*, dualmente alla misura precedente, enumera il numero di archi uscenti da un certo nodo. Assumendo che non vi siano connessioni non significative, tutti le ROI (nodi della rete) presenterebbero un medesimo *out degree* (resp. *in degree*) pari a 67. A questo scopo si è introdotta nel calcolo di *out* e *in degree* l'informazione riguardo il peso degli archi, trasformando misure nella somma dei pesi degli archi uscenti (*out degree*) ed entranti (*in degree*), come illustrato nelle formule seguenti:

$$In\ degree_k = \sum_i A_{i,k}$$

$$Out\ degree_h = \sum_j A_{h,j}$$

dove $A_{i,j}$ indica il peso dell'arco diretto dal nodo i al nodo j all'interno del grafo diretto con matrice di adiacenza A . Il peso dell'arco dipende dal valore assunto dalla connettività; pertanto, a seguito della correzione applicata, il peso di archi associati a connessioni non significative sarà pari a zero.

La centralità *betweenness* misura l'importanza di un nodo all'interno della rete sulla base di quante volte questo prenda parte al più breve percorso in grado di connettere due nodi all'interno della rete. Considerato un certo nodo u , la sua *betweenness* è data dalla formula seguente:

$$c(u) = \sum_{s,t \neq u} \frac{n_{st}(u)}{N_{st}}$$

dove $n_{st}(u)$ indica il numero di percorsi brevi esistenti fra s e t passanti attraverso il nodo u , mentre N_{st} indica il numero totale di percorsi brevi esistenti fra s e t . Nel caso in cui gli archi abbiano un peso, questo può essere preso in considerazione nel calcolo della *betweenness*, assegnando ai vari percorsi un costo calcolato sulla base del peso degli archi percorsi. Un nodo della rete è pertanto tanto più importante quante più volte questo viene attraversato nel momento in cui due nodi comunicano. Per il calcolo della centralità è necessario definire un costo sulla base del quale possa essere stabilito quale sia il percorso più breve. Come costo è stato scelto l'inverso del peso degli archi, significando pertanto

che percorsi più brevi (*i.e.* meno costosi) vengono a formarsi fra ROI con connettività elevata. Due possibili critiche possono essere mosse a questo approccio. La prima riguarda la scelta del costo, la seconda riguardo all'impiego di questa misura di centralità. Riguardo la scelta del costo, essa può parere arbitrariamente scelta fra altre possibili misure del costo, ciononostante, al momento della scrittura, non ho motivo di credere che esistano scelte che possano esprimere altrettanto efficacemente il costo. Indubbiamente si potrebbe introdurre nel costo l'informazione riguardante la posizione spaziale dei nodi all'interno della rete, penalizzando così i nodi più distanti; tuttavia, questo potrebbe non necessariamente a riflettere l'effettiva modalità attraverso cui avviene la comunicazione delle ROI. Legata a quanto appena menzionato, una seconda critica può essere mossa riguardo alla incapacità della *betweenness* di riflettere l'effettiva connettività anatomica all'interno del cervello. Da questo punto di vista, una ROI, identificata come prendente parte ad una molteplicità di "percorsi più brevi", potrebbe in realtà partecipare effettivamente solo ad una parte di questi a causa dell'assenza di connettività anatomica con alcune delle ROI della rete. Tuttavia, in assenza di informazione sulla connettività anatomica, ritengo che la scelta dell'impiego della *betweenness* sia giustificabile, anche al solo fine di capire se una certa ROI è un importante punto di transito nell'ottica della connettività funzionale (che non rispecchia necessariamente una connettività di tipo anatomico).

Oltre alle precedenti un'ulteriore coppia di misure di centralità è stata ottenuta: *hubness* e *authority* (Kleinberg, 1999). L'*authority* è una misura di centralità che rispecchia la quantità di informazione ricevuta da un nodo riguardo ad un certo argomento. L'*hubness* rispecchia la capacità di un nodo di inviare informazione riguardo ad un certo argomento all'interno della rete. I concetti di *hubness* e *authority* sono indissolubilmente legati nel senso che i migliori *hub* puntano alle migliori *authority*. Da un punto di vista matematico, detta A la matrice di adiacenza per il grafo diretto, la *authority* x_i del nodo i -esimo del grafo sarà ottenuta come:

$$x_i = \alpha \sum_k A_{k,i} y_k$$

la *hubness* y_i sarà ottenuta come:

$$y_i = \beta \sum_k A_{i,k} x_k$$

dove α e β sono delle costanti. Equivalentemente è possibile impiegare la forma matriciale:

$$\begin{aligned}x &= \alpha A^T y \\y &= \beta Ax\end{aligned}$$

combinando:

$$\begin{aligned}x &= \alpha A^T \beta A x = \lambda A^T A x = \lambda C x \\y &= \beta A \alpha A^T y = \lambda A A^T y = \lambda R y\end{aligned}$$

dove C è detta matrice di *authority* e R matrice di *hub*. Le matrici condividono i medesimi autovalori $\lambda = \alpha\beta$. *Authority* e *hub* sono pertanto gli auto-vettori delle rispettive matrici. Dal momento che la definizione data di *authority* e *hub* implica l'esistenza di infinite alternative valide, differenti solo per una costante moltiplicativa. Fra le possibili soluzioni, l'interesse ricade su quelle che forniscono un valore unitario quando sommati. Nel caso di MATLAB (dalla cui libreria proviene la funzione *centrality*), i valori di alfa e beta sono presi pari ad uno. I vettori di *hubness* e *authorities* sono computati iterativamente, iniziando il vettore di *hubness* a 1 diviso il numero totale di *hubs*, aggiornando le stime fino a che i cambiamenti nei valori dei vettori non risulta inferiore ad una soglia ($1.0 \cdot 10^{-4}$). La risoluzione dei sistemi precedenti conduce all'ottenimento delle misure di centralità. A differenza di *in degree* e *out degree*, queste misure di *centrality* forniscono una informazione addizionale. Se le prime si limitavano a sommare gli archi uscenti ed entranti da un certo nodo del grafo (tenendo conto del loro peso), *authority* e *hubness centrality* pongono l'accento anche sui nodi di destinazione, assegnando tanta più importanza alle connessioni dirette verso nodi con elevate *hub* e *authority*. Pertanto, un nodo dotato di poche connessioni uscenti forti ma dirette verso nodi con *authority* elevata risulterà avere un'elevata *hubness* nonostante possa presentare un *out degree* ridotto rispetto ad altri nodi. Equivalentemente, un nodo avente un *in degree* ridotto potrebbe comunque essere un'importante *authority* se forma forti connessioni entranti con nodi aventi *hubness* elevata.

Da un punto di vista implementativo, le misure di centralità precedentemente menzionate sono state ottenute ricorrendo alle funzioni messe a disposizione da MATLAB. Le centralità sono state calcolate separatamente per ogni soggetto a partire dalla matrice di connettività normalizzate. Le matrici di connettività normalizzate sono

state trasformate in matrici di adiacenza tramite trasposizione: le matrici di connettività presentano come colonne le ROI da cui parte la connessione; per definizione, al contrario, una matrice di adiacenza presenta sulle colonne i nodi di destinazione di un arco. Dalle misure di centralità separatamente computate sono state ottenute le misure di centralità medie per i gruppi a basso ed alto tratto autistico. La scelta di ottenere delle misure di centralità medie a partire dalle misure effettuate sui singoli individui ci consente di ridurre l'influenza di possibili *outlier*. Abbiamo infatti osservato, all'interno dei dati a disposizione, la presenza di un certo numero di soggetti con connettività complessivamente ridotte, ma estremamente elevate in direzione di un numero ridotto di nodi. Nel caso si fosse ottenuta la centralità dalla media delle matrici di connettività normalizzate in ciascun gruppo (alto e basso tratto autistico), il riflettersi del comportamento anomalo di questi soggetti sulle matrici di connettività avrebbe determinato misure di centralità estremamente simili a quelle ottenute prendendo in considerazione quei singoli soggetti. Una volta ottenute le misure di centralità, per mettere in evidenza le ROI più importanti, per ciascuna misura sono state selezionate le prime quattro con lo specifico valore di centralità più elevato. Come si potrà osservare in "Risultati", per ciascuna ROI identificata come "importante" sono stati mostrati i valori assunti dalle misure di centralità così da non sacrificare l'informazione data dalla loro magnitudine.

6.7 Grafici

A partire dai dati calcolati precedentemente sono stati ricavati i grafici che di seguito provvederò a illustrare.

Una volta ottenute le matrici di connettività medie di gruppo, come media delle singole matrici di connettività normalizzate, dalla matrice differenza fra alto e basso tratto autistico si è ottenuta una rappresentazione di come differiscono le connessioni più forti in entrambi i gruppi. Per ottenere le connessioni più forti nel gruppo ad alto tratto autistico si è proceduto nel selezionare all'interno della matrice di connettività le differenze di valore superiore ad una soglia impostata pari a $8.5 \cdot 10^{-2}$. Per rappresentare le connessioni più forti nel gruppo a basso tratto autistico, sono state invece selezionate le differenze di valore inferiore alla soglia $-8.5 \cdot 10^{-2}$.

Grafici delle matrici di connettività per i singoli soggetti sono stati ottenuti per finalità comparative con i grafici della matrice differenza. Per ridurre le connessioni rappresentate alle sole connessioni significative si è scelta una soglia pari a $9.0 \cdot 10^{-1}$, impiegata per entrambi i gruppi. Le rappresentazioni sono state raccolte in due grafici, usando come criterio di separazione l'appartenenza ai differenti gruppi.

Sia nel caso della matrice differenza che delle matrici di connettività dei singoli soggetti, la correzione di Bonferroni è sempre stata applicata alle matrici di connettività al fine di mantenere solo le connessioni significative.

I risultati del *permutation test* sono stati rappresentati per il caso *left* e *right tail*. A questo scopo vettori prodotti dal *permutation test* sono stati riorganizzati in matrici di dimensione $68 \cdot 68$. Dalle matrici sono state rappresentate le sole connessioni con un *p value* inferiore ad una soglia di $6.0 \cdot 10^{-3}$, limitando pertanto la rappresentazione alle più significative. Lo spessore con cui tali connessioni sono state rappresentate è stato fatto variare in relazione al valore del *p value*. La suddivisione scelta prevede l'impiego di tre gruppi, che ora elencherò per spessore associato crescente: *p value* compreso fra $6.0 \cdot 10^{-3}$ e $2.5 \cdot 10^{-3}$ (spessore 1), fra $2.5 \cdot 10^{-3}$ e $1.0 \cdot 10^{-3}$ (spessore 2), fra $1.0 \cdot 10^{-3}$ (spessore 3). A partire dai risultati ottenuti con impostazione *left tail* si è ottenuta la rappresentazione delle connessioni significative per il gruppo a basso tratto autistico. Dai dati ricavati con *right tail permutation test* si sono rappresentate le connessioni significative per il gruppo ad alto tratto autistico. Dal momento che l'impiego della sola coda destra (*risp.* sinistra)

come zona di rifiuto determina immediatamente l'applicazione della ipotesi nulla alle connessioni sulla coda opposta, si riesce ad avere una corrispondenza fra le connessioni significative nel gruppo ad alto score (*risp.* basso) e i risultati del *permutation test* con impostazione *right tail* (*risp.* *left*).

Le misure di centralità sono state rappresentate separatamente per i due gruppi. In grafici separati i più importanti *hub* e le principali *authority* sono stati rappresentati come *dot* colorati, mantenendo l'informazione sulla posizione anatomica sul piano trasversale delle ROI. Il concetto di importanza di *hub* e *authority* è stato stabilito sulla base dell'intensità del valore assunto da queste misure. Per ciascuna misura di centralità, fra tutte le ROI sono state rappresentate graficamente solamente le prime quattro con il più elevato valore di centralità. Anche nel caso della *betweenness* sono state rappresentate graficamente come *dot* le prime quattro ROI per valore assunto. L'informazione sul grado di *centrality* è stata mantenuta ricorrendo ad una rappresentazione colorata dei *dot* attraverso una opportuna scala colori. Il valore massimo e minimo assegnati alla mappa colori sono stati impostati per ciascuna misura come condivisi fra i due gruppi.

Un ulteriore grafico è stato prodotto al fine di rappresentare le connessioni che si formano fra *hubs*, *authorities* e i nodi principali per *betweenness*. A questo fine mi sono curato di limitare la rappresentazione alle sole connessioni dirette da *hub* ad *authorities* e passanti per i soli principali quattro nodi per valore di *betweenness*. Al fine di non perdere l'informazione riguardo alla intensità, ogni connessione è stata rappresentata graficamente con uno spessore tanto più elevato quanto più elevato il suo valore.

Attraverso l'ausilio di diagrammi a barre ho provveduto anche a rappresentare come variano i valori di connettività in ognuna delle ROI. La variazione di connettività è stata ottenuta mediante la seguente formula:

$$variation(\%) = \frac{centrality_high - centrality_low}{centrality_low} \cdot 100$$

dove, nel caso della sola *betweenness centrality*, la misura di centralità è sostituita con la seguente misura relativa:

$$betweenness (rel) = \frac{betweenness_i}{\sum_i betweenness_i}$$

la scelta di adottare una misura relativa è stata fatta solamente per coerenza con *hubness* e *authority* (entrambe queste misure sono fornite come vettori con somma 1).

Per facilitare la lettura, i dati ottenuti per le differenti ROI sono stati ordinati in quattro gruppi, ognuno di essi facente riferimento ad un diverso lobo del cervello: frontale, parietale, temporale, occipitale. Riporto di seguito come le ROI fornite dall'atlante Disikan-Killiany sono state distribuite nei differenti gruppi (Cordero, 2021):

- Frontale: *Superior Frontal, Rostral e Caudal Middle Frontal, Pars Opercularis, Pars Triangularis, Pars Orbitalis, Lateral e Medial Orbitofrontal, Precentral, Paracentral, Frontal Pole, Rostral Anterior Cingulate, Caudal Anterior Cingulate;*
- Parietale: *Superior Parietal, Inferior Parietal, Supramarginal, Postcentral, Precuneus, Ishtmus, Posterior Cingulate, Insula;*
- Temporale: *Superior, Middle e Inferior Temporal, Banks of the Superior Temporal Sulcus, Fusiform, Transverse Temporal, Entorhinal, Temporal Pole, Parahippocampal;*
- Occipitale: *Lateral Occipital, Lingual, Cuneus, Pericalcarine.*

Un grafico a barre rappresentante come varia la centralità (in termini percentuali) nelle diverse regioni è stato fornito al fine di sintetizzare ulteriormente i dati ottenuti.

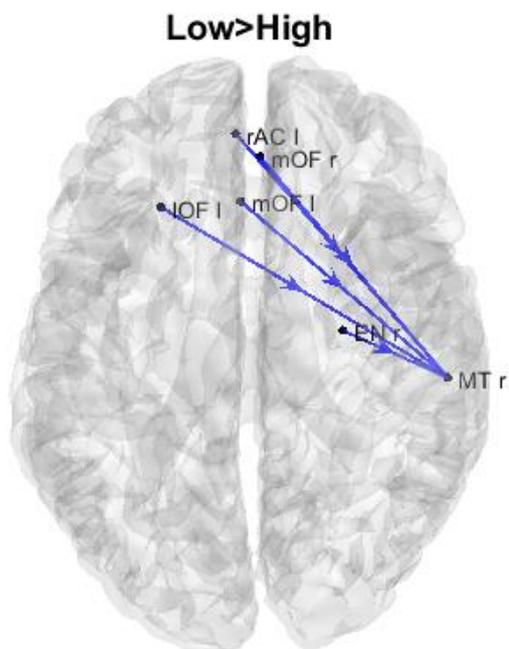


Figura 15 - Connessioni più forti nel gruppo a basso tratto autistico, ottenute rappresentando gli elementi della matrice differenza superiori al valore di soglia - $8.5 \cdot 10^{-2}$.

sono volute ottenere le connessioni più forti nel gruppo a basso punteggio autistico. Con tale soglia le connessioni significative ottenute risultano essere cinque. Queste connessioni presentano una direzionalità di tipo *top-down* e coinvolgono principalmente i lobi frontale e temporale. Fra le ROI coinvolte, MT(r) emerge come unico punto di convergenza delle cinque connessioni individuate. La rappresentazione grafica può essere consultata in figura [15].

Dato il comportamento fortemente uniforme delle connettività, a fine di verifica sono state rappresentate le matrici di connettività normalizzate per i singoli soggetti dei gruppi ad alto e basso punteggio autistico. Per far emergere le sole connessioni significative si è impiegata una soglia di 1.4% in entrambi i casi. Con tale soglia, nel gruppo a score alto emergono due soli soggetti (24 e 36), mentre nel gruppo a score basso un solo soggetto (25). I pattern di connettività per questi soggetti ricalcano quello che il comportamento esibito nei grafici della matrice differenza. In particolare, nel caso *high score* il soggetto 24 sembrerebbe determinare la convergenza delle connessioni del gruppo in IOF(l), mentre il soggetto 36 la convergenza in LG(r). Nel caso *low score*, il soggetto 25 spiegherebbe la convergenza delle connessioni del gruppo in MT(r). Per la rappresentazione delle singole connettività per entrambi i gruppi fare riferimento alle figure [16] e [17].

Gruppo ad alto score autistico

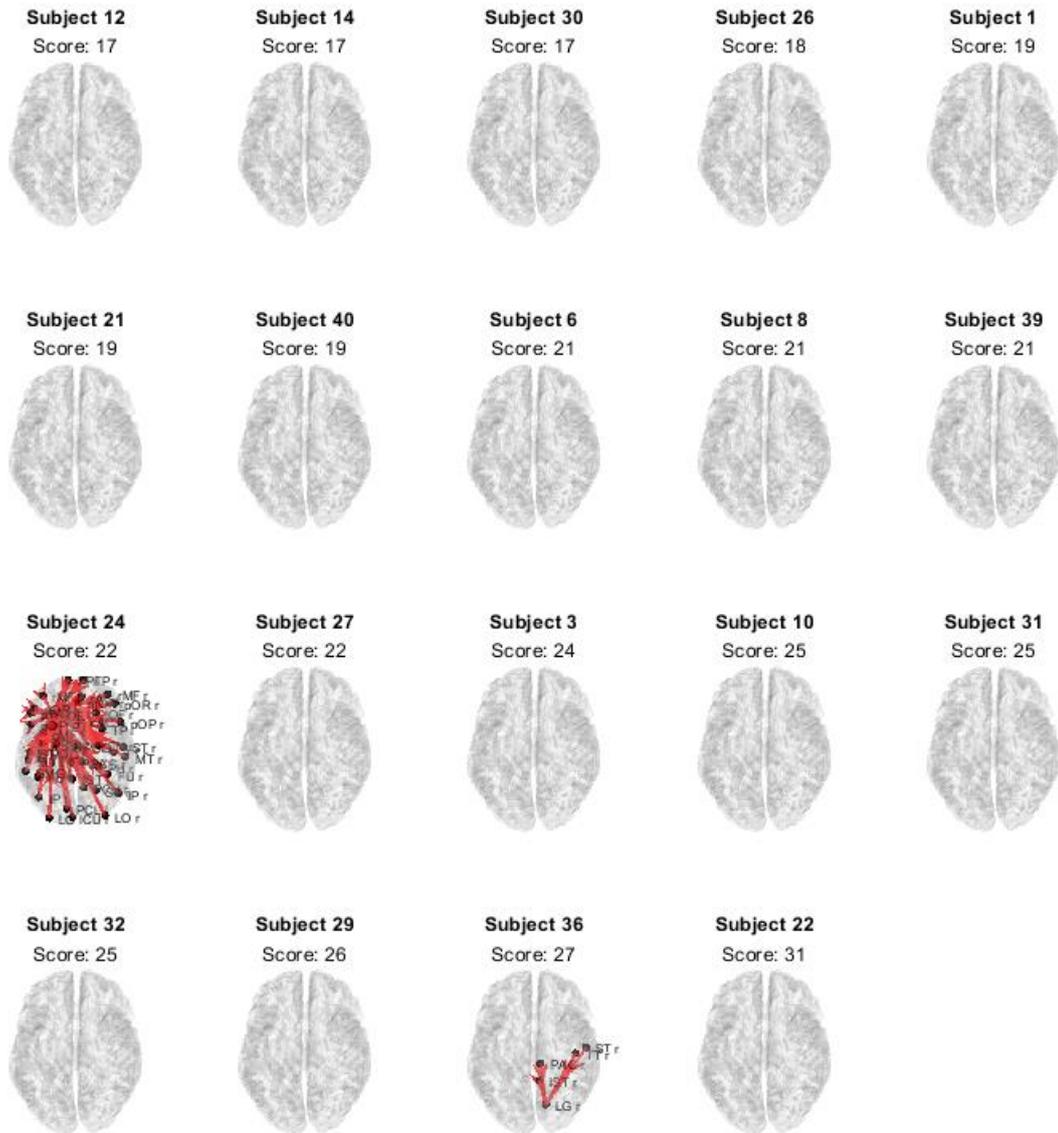


Figura 16 - Rappresentazione delle singole matrici di connettività normalizzate per i soggetti del gruppo ad alto score autistico. La soglia impiegata è pari a 1.4%.

Gruppo a basso score autistico

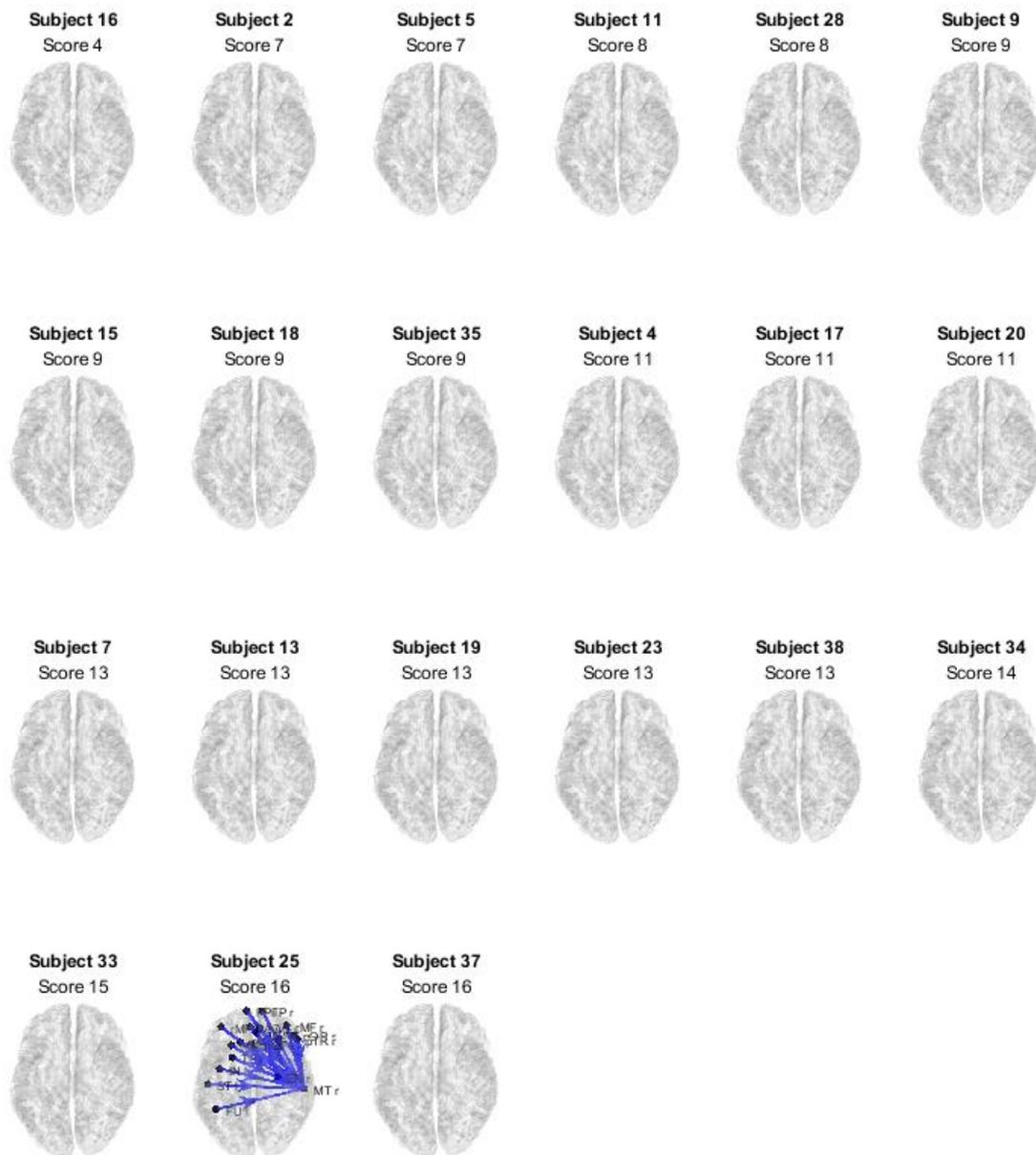


Figura 17 - Rappresentazione delle singole matrici di connettività normalizzate per i soggetti del gruppo a basso score autistico. La soglia impiegata è pari a 1.4%.

La rappresentazione grafica (realizzata in MATLAB tramite *imagesc*) delle matrici di connettività dei singoli soggetti e della matrice differenza (limitatamente ai valori positivi o quelli negativa) consente di apprezzare delle strutture grafiche comuni sia ad alcuni soggetti che alla matrice differenza (figure [18], [19] e [20]). Queste strutture potrebbero evidenziare l'effetto polarizzante di alcuni soggetti. Nel tentativo di quantificare l'influenza delle singole matrici di connettività sulle rappresentazioni della matrice differenza sono ricorso alla Mutua Informazione (MI). La Mutua Informazione trova applicazione in diversi contesti: dall'ambito delle reti neurali e dell'elaborazione dei segnali (*principio Infomax*) all'ambito delle immagini mediche (algoritmi di registrazione). In questo caso, l'ispirazione all'uso della Mutua Informazione proviene dal campo delle Bioimmagini, e in particolare dalla registrazione delle immagini mediche.

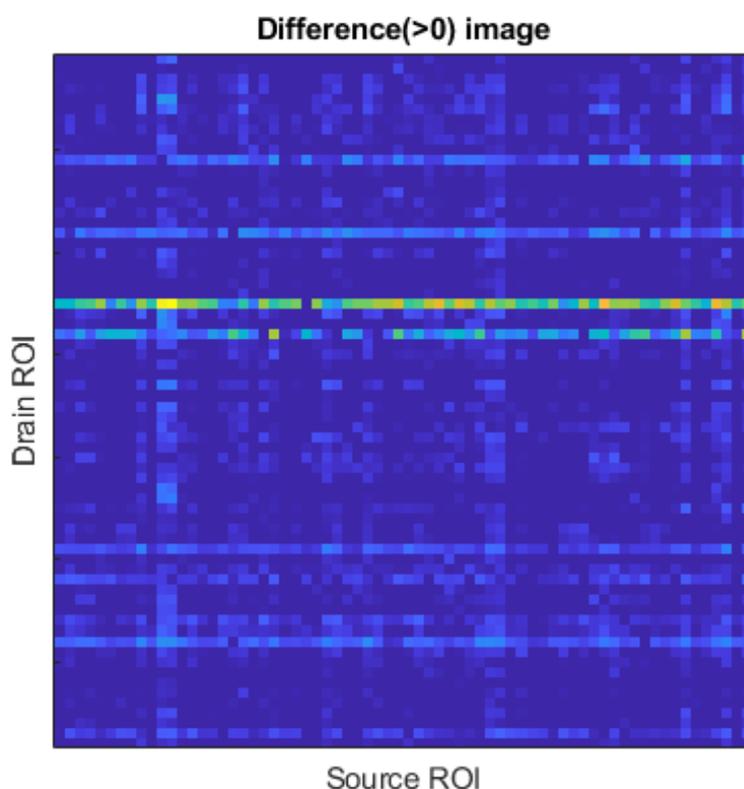


Figura 18 - Immagine prodotta mediante il comando *imagesc()* di MATLAB rappresentante gli elementi maggiori di zero della matrice differenza. Le colonne corrispondono alle ROI da cui origina una connessione, le righe corrispondono alle ROI in cui termina una connessione. Come si può osservare dalla immagine, valori elevati di connettività sono osservabili a livello della riga corrispondente alla ROI IOF(1).

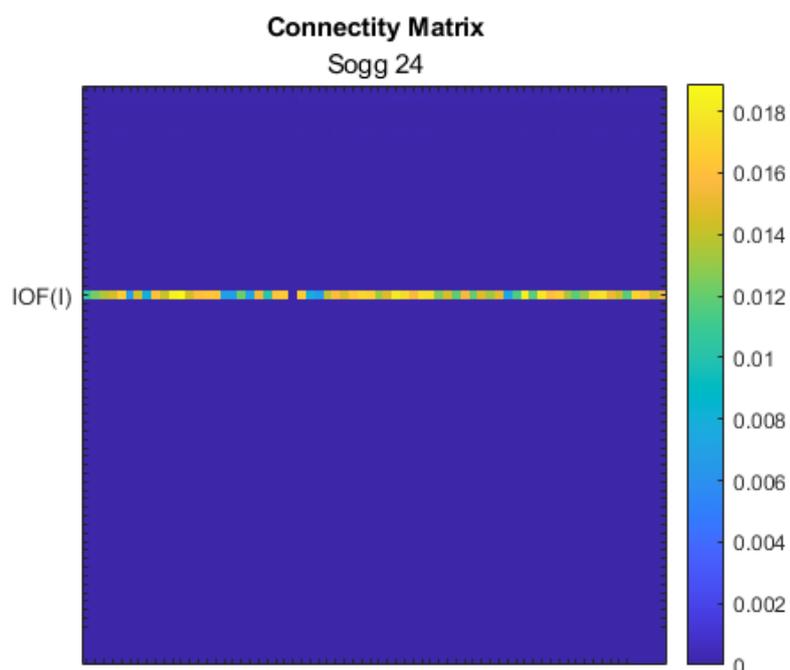


Figura 19 - Rappresentazione grafica della matrice di connettività normalizzata per il soggetto 24 (gruppo ad alto tratto autistico). Come è possibile osservare, forti connessioni si concentrano nella direzione entrante a IOF(l).

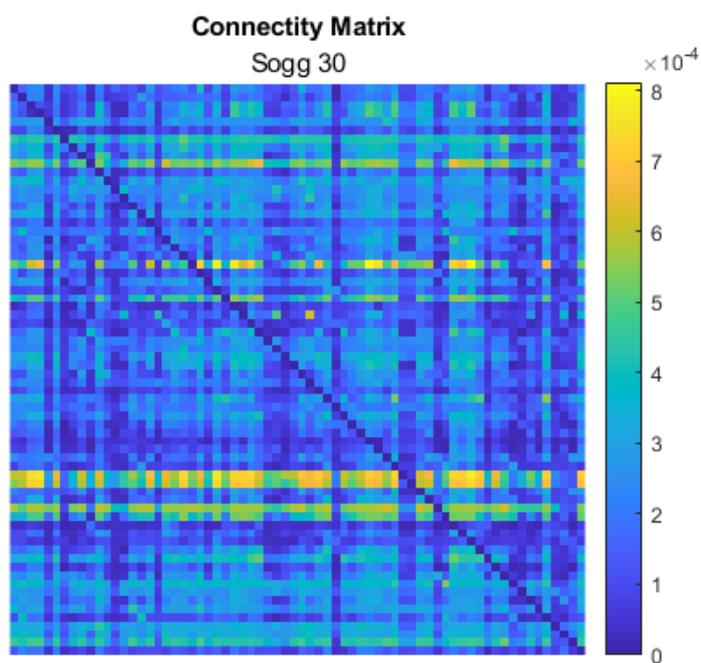


Figura 20 - Rappresentazione grafica della matrice di connettività normalizzata in un soggetto non "anomalo". Nello specifico si rappresenta qui il soggetto 30 (gruppo ad alto tratto autistico). Come si può osservare, nonostante la prevalenza di alcune ROI, i valori della connettività si distribuiscono in maniera quasi uniforme su tutta la matrice.

Con “registrazione” si intende l’operazione di allineamento di immagini differenti (perché acquisite in tempi diversi, da modalità diverse, etc.). Nel corso della registrazione diventa necessario valutare la bontà dell’operazione svolta. Una possibile soluzione al problema di valutazione della bontà della registrazione, in particolare quando si opera con immagini provenienti da modalità diverse, è l’impiego della teoria dell’informazione, e specificatamente della Mutua Informazione. Prendendo ispirazione dall’ambito delle Bioimmagini, immaginiamo che le nostre matrici di connettività rappresentino delle immagini in scala di grigio proveniente da una certa modalità. Allo stesso modo, immaginiamo che la rappresentazione degli elementi sopra soglia della matrice differenza costituisca una immagine proveniente da una differente modalità di acquisizione. Fra le immagini di queste differenti modalità è possibile costruire un istogramma congiunto in grado di fornirci la probabilità congiunta, che ci consente di calcolare l’entropia congiunta. Dal successivo calcolo della mutua informazione possiamo determinare quale delle singole matrici di connettività presenta una maggiore somiglianza con quanto mostrato dalla matrice differenza.

Al fine di poter impiegare la Mutua Informazione, ho trasformato le matrici di connettività in matrici in formato *unsigned int 8bit*, i cui valori variano fra un minimo di 0 e un massimo di 255. La conversione impiegata è la seguente:

$$connettività_i(8bit) = 255 \frac{connettività_i}{max(connettività_i)}$$

dove il pedice i indica il riferimento al soggetto i esimo. Dal momento si sta cercando di valutare la somiglianza esistente con una precisa rappresentazione della matrice differenza, una seconda immagine è stata ottenuta dalla matrice differenza, rispettivamente a partire dai soli elementi maggiori di 0 (per valutare la MI con le connettività del gruppo a score elevato) e minori di 0 (per score ridotto). La MI è stata calcolata nella maniera seguente:

$$MI(A, B) = M(A) + H(B) - H(A, B)$$

La rappresentazione dei risultati può essere vista nelle figure [21] e [22].

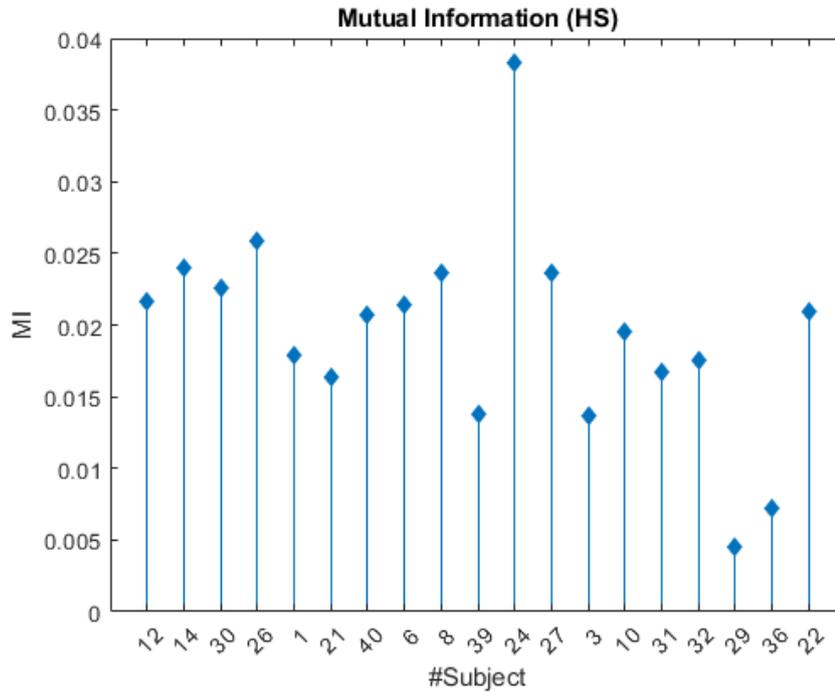


Figura 21 - Risultati del calcolo della Mutua Informazione fra i valori positivi della matrice differenza e le singole matrici di connettività dei soggetti ad alto score. L'elevata MI in corrispondenza del soggetto 24 suggerisce una sua influenza sulla matrice differenza.

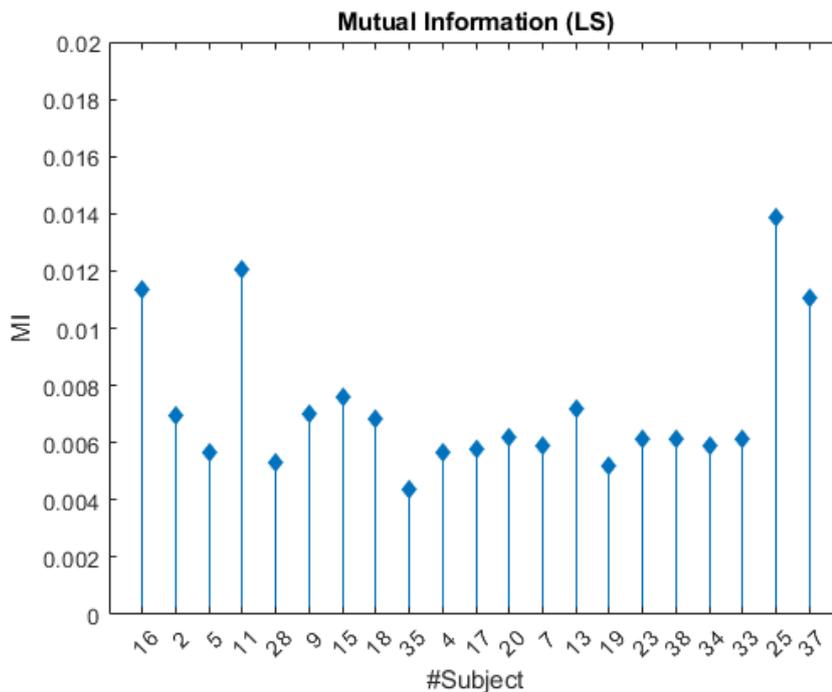


Figura 22 - Risultati del calcolo della Mutua Informazione fra i valori negativi della matrice differenza e le singole matrici di connettività dei soggetti a basso score. Come si può evincere, il soggetto 25 sembra influenzare maggiormente degli altri la rappresentazione.

7.2 Analisi statistica

Per identificare le connessioni significative nei gruppi ad alto e basso tratto autistico sono stati rappresentati i risultati ottenuti dall'applicazione di *Monte Carlo testing* (alfa critico: 0.05; numero randomizzazioni: 5000) con le impostazioni *right* e *left tail*. Come precedentemente menzionato, l'impiego di una singola coda come zona di rifiuto della ipotesi nulla consente di identificare separatamente le connessioni significative in ciascuno dei due gruppi. Ponendo la zona di rifiuto in corrispondenza di una sola delle due code, l'ipotesi nulla risulta immediatamente confermata per tutte le connessioni che ricadono nella coda opposta e che erano considerate significative nel caso *two-sided tails*.

L'applicazione di *Monte Carlo testing* con impostazione *left tail* fornisce le connessioni più significative per il gruppo a basso tratto autistico. Fra le connessioni identificate come significative da *Monte Carlo testing* si è provveduto a rappresentare le sole con *p value* inferiore ad una soglia di $6.0 \cdot 10^{-3}$, in maniera tale da limitare il numero di connessioni rappresentate alle più importanti, dividendo queste in tre gruppi di differente significatività. Un totale di 39 connessioni sono state individuate. Fra le connessioni individuate, 22 appartengono al gruppo a più alto *p value* (fra $6.0 \cdot 10^{-3}$ e $2.5 \cdot 10^{-3}$), 7 al gruppo a *p value* intermedio (fra $2.5 \cdot 10^{-3}$ e $1.0 \cdot 10^{-3}$), 10 al gruppo a *p value* ridotto (inferiore a $1.0 \cdot 10^{-3}$). Le connessioni significative individuate si concentrano principalmente nelle zone parietale, centrale e temporale del cervello. Delle 39 connessioni significative, la maggior parte è di tipo *top-down*. Le regioni più coinvolte da connessioni in uscita sono TT(l) (6 connessioni), PCG(r) (6 connessioni) e PCG(l) (7 connessioni). Le regioni più coinvolte da connessioni in ingresso sono PCL(l) (7 connessioni) e ST(r) (5 connessioni). La rappresentazione delle connessioni è riportata in figura [23].

Da *Monte Carlo testing* con impostazione *right tail* si sono ottenute le connessioni per il gruppo ad alto tratto autistico. Con una soglia uguale alla precedente ($6.0 \cdot 10^{-3}$), nel caso di elevato tratto autistico sono state individuate 8 connessioni significative. Tutte e 8 le connessioni individuate appartengono al gruppo a più alto *p value* (fra $6.0 \cdot 10^{-3}$ e $2.5 \cdot 10^{-3}$). Le connessioni sono tutte di tipo *bottom-up*, coinvolgendo principalmente i lobi occipitali, centrali e frontali. La principale regione ad emergere in termini di

connessioni uscenti è PCL(l) (4 connessioni). Ad emergere per connessioni entranti sono invece le regioni PAC(1) (2 connessioni) e PRC(1) (2 connessioni). Per la rappresentazione fare riferimento alla figura [24].

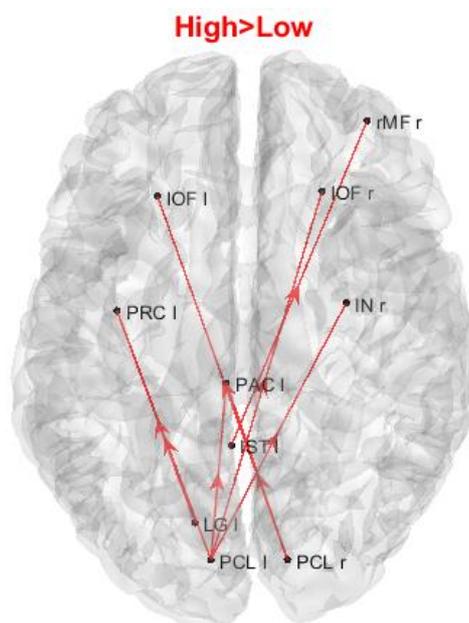


Figura 23 - Connessioni con p-value più basso (più significative) del gruppo ad alto score. Le connessioni significative sono in numero ridotto, principalmente con direzionalità bottom-up. Si noti inoltre che tutte le connessioni rappresentate ricadono nel gruppo a p-value più elevato.

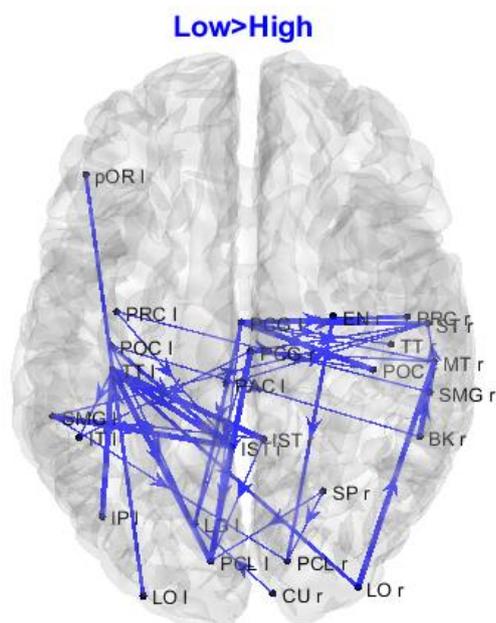


Figura 24 - Connessioni più significative del gruppo a basso score autistico. Le connessioni si distribuiscono fra tutti e tre i gruppi a differente significatività, sono numerose e principalmente localizzate in posizioni occipitale, parietale e temporale.

7.3 Misure di centralità

Per ciascuna delle matrici di connettività normalizzate dei 40 soggetti sono state calcolate le seguenti misure di centralità: *hubness*, *authority*, *in degree*, *out degree*, *betweenness*. La centralità media di gruppo è stata ottenuta come media delle misure di centralità dei soggetti appartenenti al gruppo (alto o basso tratto autistico). Per ognuna delle misure sono stati prese le prime quattro ROI in termini di intensità del valore di centralità.

Dal calcolo dell'*hubness* sono stati ottenuti i seguenti risultati, rappresentati graficamente in figura [25]. Per i soggetti del gruppo ad alto tratto autistico gli *hub* identificati sono FP(l), FP(r), TP(r) ed EN(l). Per i soggetti del gruppo a ridotto tratto autistico sono stati identificati invece rAC(r), IOF(l), mOF(l), EN(l). In entrambi i casi gli *hub* principali si concentrano nei lobi frontale e parietale. I risultati ottenuti per l'*out degree* si accordano con quelli ottenuti per l'*hubness* nel caso del gruppo ad alto tratto autistico. Per il gruppo a basso tratto autistico, come principali nodi per *out degree* vengono individuati rAC(r), PCU(r), IOF(l) ed EN(l), fra i quali tre risultano accordarsi con i risultati ottenuti per l'*hubness*, mentre PCU(r) no.

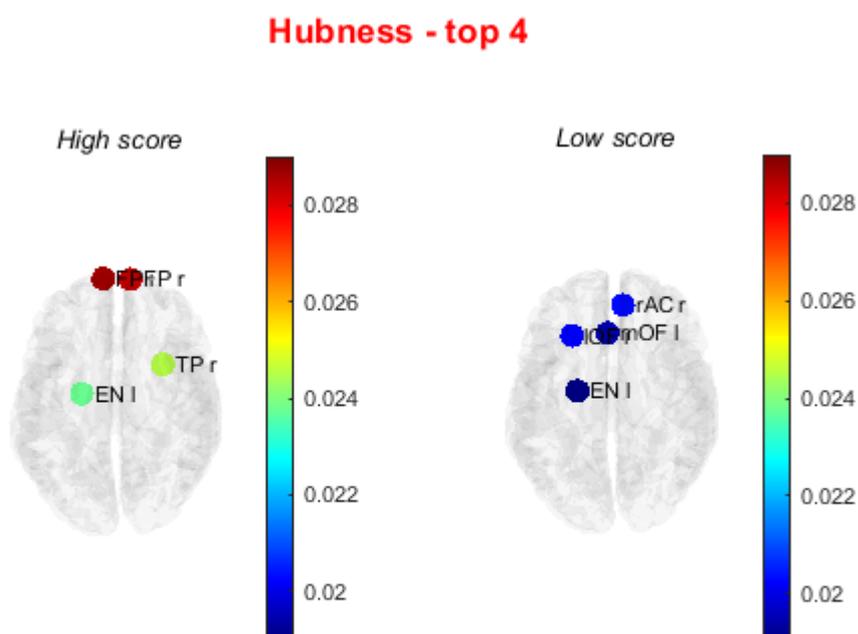


Figura 25 - Rappresentazione delle prime quattro ROI per magnitudo della misura di hubness in entrambi i gruppi (alto e basso tratto autistico).

Authority - top 4

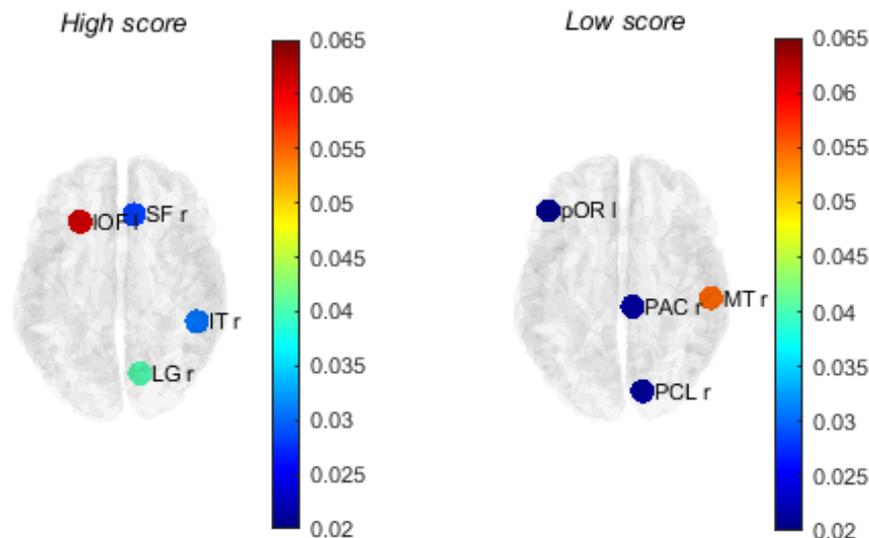


Figura 26 - Rappresentazione delle prime quattro ROI per magnitudo della misura di authority in entrambi i gruppi (alto e basso tratto autistico).

In figura [26] si mostra quanto ottenuto dal calcolo dell'*authority*. Nel caso dell'*authority*, per il gruppo ad alto tratto autistico sono state ottenute le ROI seguenti: IOF(l), LG(r), IT(r) e SF(r). Per il gruppo a basso tratto autistico le ROI risultanti sono invece MT(r), PAC(r), PCL(r) e pOR(l). In questo caso, le ROI si distribuiscono fra le regioni frontali, parietali, temporali e occipitali. In particolare, per i soggetti ad alto tratto autistico si ha una prevalenza frontale, mentre per i soggetti a basso le principali *authority* si concentrano nella zona rostrale del cervello (includendo sia i lobi temporale, parietale e occipitale). L'*in degree* si accorda con l'*authority* nel caso dei soggetti ad alto tratto autistico. Per il gruppo a basso tratto autistico MT(r), PCL(r) e pOR(l) sono condivise fra *authority* e *in degree*, mentre PCL(r) risulta essere nuova.

Per la *betweenness*, i cui risultati sono osservabili in figura [27], le principali ROI individuate nel caso del gruppo ad alto *score* sono state IOF(l), TT(l), pOR(l) e rAC(r). Per il gruppo a basso *score* le ROI individuate sono pOR(l), IOF(l), EN(r) e MT(r). Due di queste ROI sono facenti parte anche delle ROI principali per il gruppo ad alto tratto autistico.

Betweenness - top 4

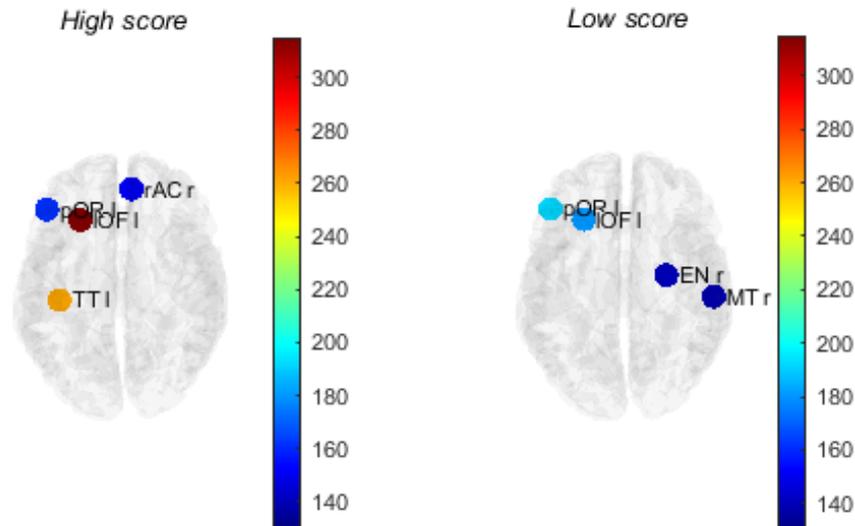


Figura 27 - Rappresentazione delle quattro ROI con valore più elevato di betweenness per ognuno dei due gruppi (alto e basso tratto autistico).

Dal punto di vista dei valori assunti, per il gruppo ad alto tratto autistico l'*hubness* presenta un valore massimo di 0.0287 (FP(l)), un valore minimo di 0.0085 (LO(l)), un valore medio di 0.0147 ± 0.0042 . L'*authority* ha un valore massimo di 0.0615 (IOF(l)), un valore minimo di 0.0089 (FP(r)), valore medio pari a 0.0147 ± 0.0077 . La *betweenness* assume un valore massimo di 317.26 (IOF(l)), un valore minimo di 9.21 (PRC(r)), valore medio 59.08 ± 50.79 . Per il gruppo a basso tratto autistico sono stati ottenuti invece i seguenti risultati. L'*hubness* presenta un valore massimo di 0.0203 (rAC(r)), valore minimo 0.0079 (PCL(r)), valore medio 0.0147 ± 0.0026 . L'*authority* assume un valore massimo di 0.0548 (MT(r)), un minimo di 0.0085 (PCU(l)), con valore medio 0.0147 ± 0.0057 . Per quanto riguarda la *betweenness*, il valore massimo assunto è 192.14 (pOR(l)), il valore minimo è 10.57 (PRC(r)), il valore medio 62.81 ± 36.55 .

Per informazioni più dettagliate sui valori delle misure di centralità ottenute si rimanda alle tabelle da [4] a [13].

Misure di *Hubness* e *Out Degree*

HIGH SCORE

ROI label	Hubness value
'FP(r)'	0.028669
'FP(l)'	0.02831
'TP(l)'	0.024514
'EN(l)'	0.023797

Tabella 4 - Label e valore delle prime quattro ROI per hubness (High score).

LOW SCORE

ROI label	Hubness value
'rAC(r)'	0.020317
'IOF(l)'	0.020243
'mOF(l)'	0.019503
'EN(l)'	0.018853

Tabella 5 - Label e valore delle prime quattro ROI per hubness (Low score).

HIGH SCORE

ROI label	out degree value
'FP(r)'	2.6816
'FP(l)'	2.6753
'TP(l)'	2.2783
'EN(l)'	2.2296

Tabella 6 - Label e valore delle prime quattro ROI per out degree (High score).

LOW SCORE

ROI label	out degree value
'rAC(r)'	2.0006
'PCU(r)'	1.9935
'IOF(l)'	1.9451
'EN(l)'	1.9219

Tabella 7 - Label e valore delle prime quattro ROI per out degree (Low score).

Misure di *Authority* e *In Degree*

HIGH SCORE

ROI label	Authority value
'IOF(l)'	0.06155
'LG(r)'	0.040344
'IT(r)'	0.030594
'SF(r)'	0.028296

Tabella 8 - Label e valore delle prime quattro ROI per authority (High score).

LOW SCORE

ROI label	Authority value
'MT(r)'	0.054796
'PAC(l)'	0.021291
'PCL(r)'	0.020951
'pOR(l)'	0.020264

Tabella 9 - Label e valore delle prime quattro ROI per authority (Low score).

HIGH SCORE

ROI label	In degree value
'IOF(l)'	6.2606
'LG(r)'	3.9498
'IT(r)'	3.1619
'SF(r)'	2.8505

Tabella 10 - Label e valore delle prime quattro ROI per in degree (High score).

LOW SCORE

ROI label	In degree value
'MT(r)'	5.4393
'pOR(l)'	2.1299
'PCL(l)'	2.1081
'FU(l)'	1.96171

Tabella 11 - Label e valore delle prime quattro ROI per in degree (Low score).

Misure di *Betweenness*

HIGH SCORE

ROI label	Betweenness value
'IOF(l)'	317.26
'TT(l)'	260.84
'pOR(l)'	161.63
'rAC(r)'	149.47

Tabella 12 - Etichetta delle quattro ROI con betweenness più elevata e valore corrispondente (gruppo ad alto tratto autistico).

LOW SCORE

ROI label	Betweenness value
'pOR(l)'	192.14
'IOF(l)'	180.1
'EN(r)'	139.86
'MT(r)'	138.67

Tabella 13 - Etichetta delle quattro ROI con betweenness più elevata e valore corrispondente (gruppo a basso tratto autistico).

La figura [28] rappresenta i principali nodi per *hubness*, *authority* e *betweenness* insieme con le connessioni che si instaurano fra essi. Ad essere rappresentate sono le sole connessioni nella direzione che porta da un *hub* ad una *authority*, necessariamente passanti per uno dei quattro nodi individuati per valore di *hubness*. Al fine di rendere la differente forza delle connessioni si è fatto ricorso a una trasformazione non lineare dal valore dell'*edge* al suo spessore. La trasformazione impiegata è la seguente:

$$Line\ Width(x) = (x - \min(edge)) \frac{(3 - 0.1)}{(\max(edge) - \min(edge))} + 0.1$$

Dove x indica il valore corrente dell'*edge* di cui si vuole determinare lo spessore al fine di rappresentarlo graficamente. Per quanto la trasformazione possa apparire arbitraria,

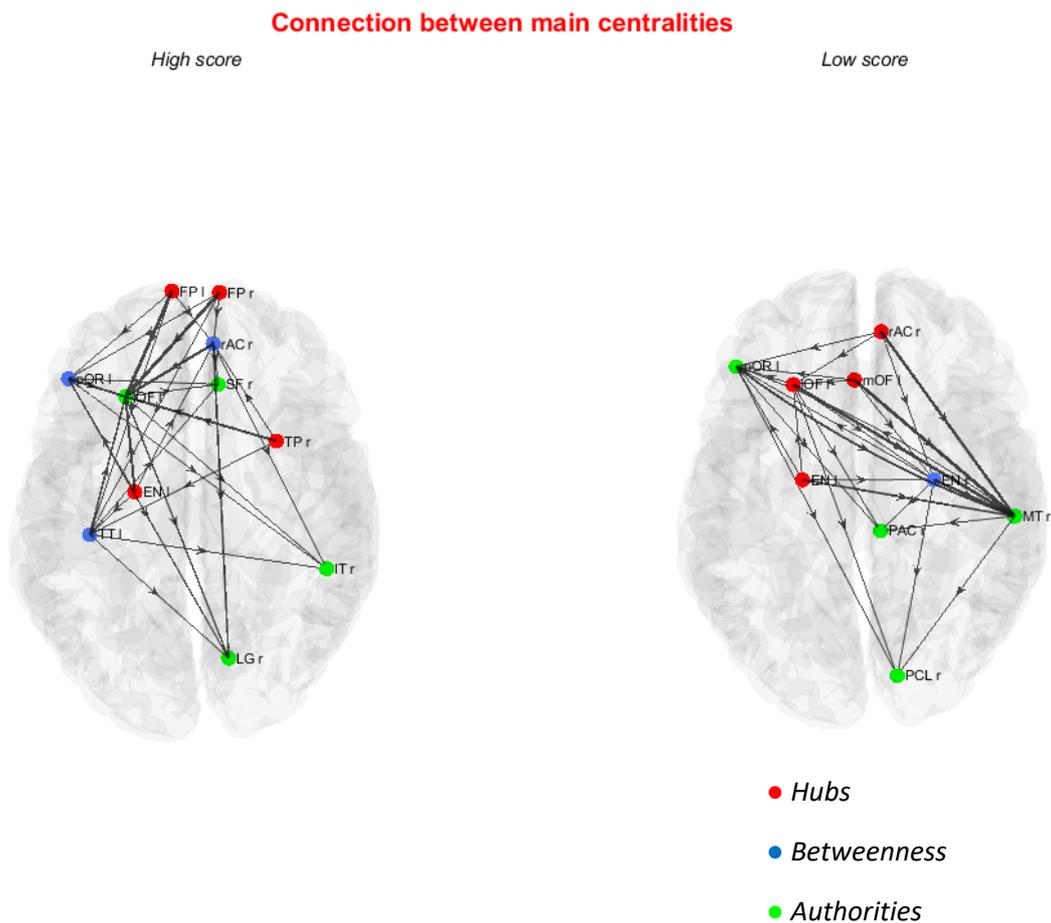


Figura 28 - Principali nodi per *hubness*, *authority* e *betweenness* rappresentati con le connessioni che si formano fra essi. Sono state rappresentate le sole connessioni dirette da *hub* verso *authority* e passanti per nodi di *betweenness*. I nodi di *betweenness* sono in entrambi i casi meno di quattro a causa del sovrapporsi delle misure di centralità.

ritengo che riesca a rendere efficacemente le differenti forze delle connessioni, esaltando quali siano forti e quali siano deboli.

Nelle figure da [29] a [43] si fornisce una rappresentazione di come *hubness*, *authority* e *betweenness* variano per tutte le ROI nelle due popolazioni. Al fine di semplificare la consultazione, le ROI sono state divise in base alla zona di appartenenza (frontale, parietale, temporale, occipitale).

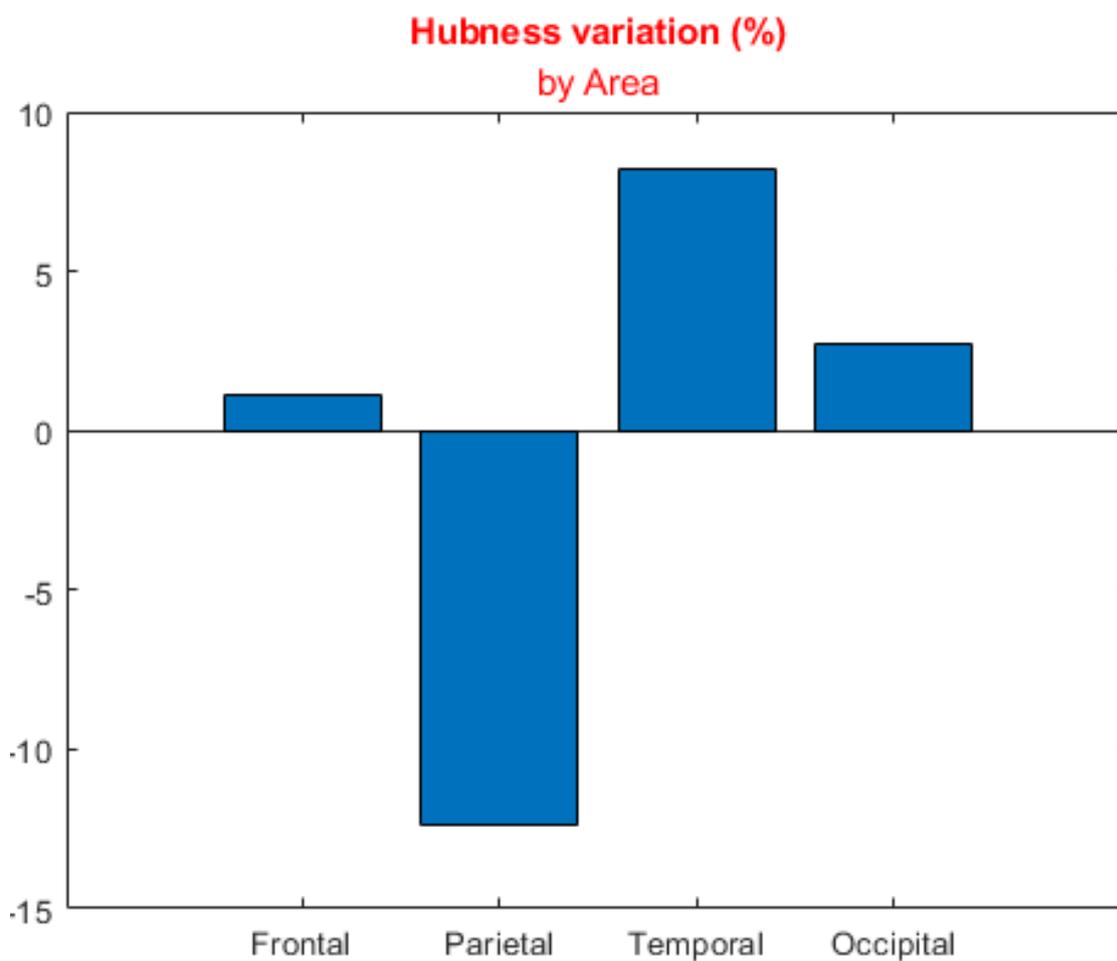


Figura 29 - Variazione percentuale della hubness fra le varie macro-aree del cervello.

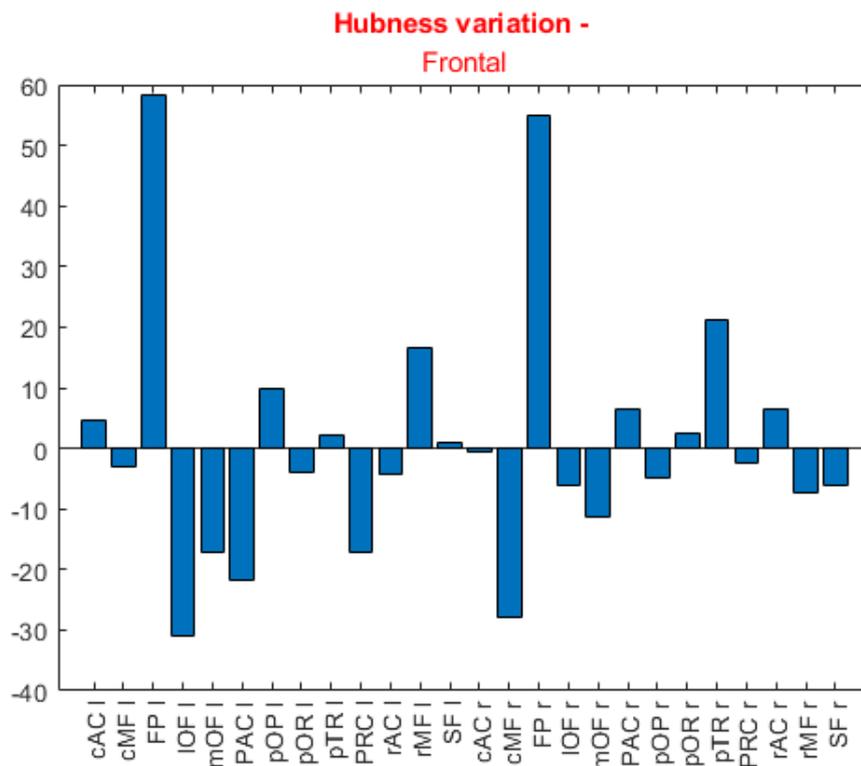


Figura 30 - Variazione percentuale della hubness fra le diverse ROI della zona frontale.

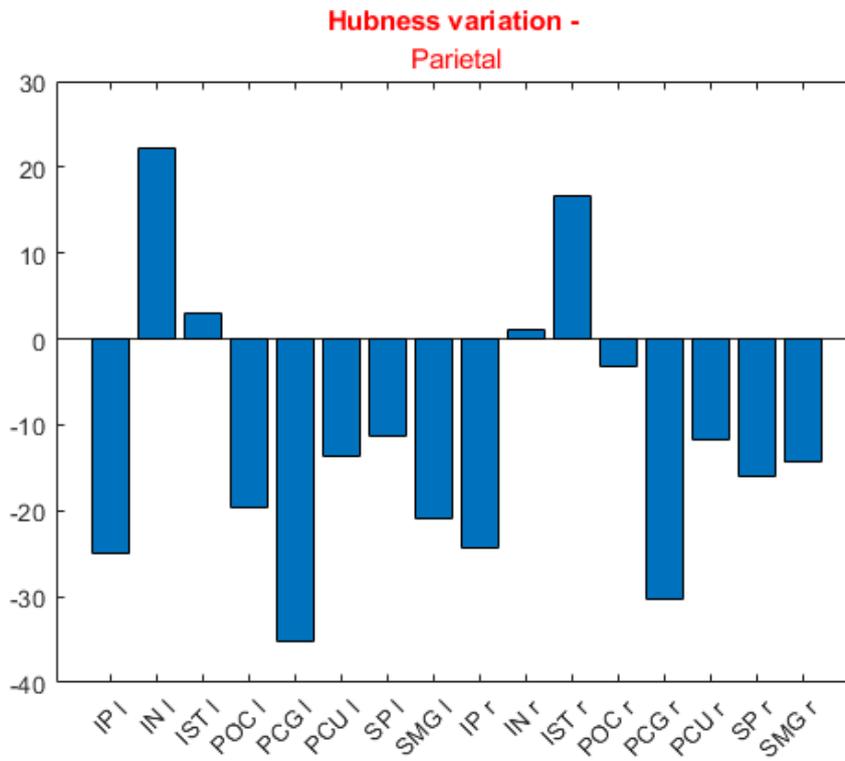


Figura 31 - Variazione percentuale della hubness fra le diverse ROI della zona parietale.

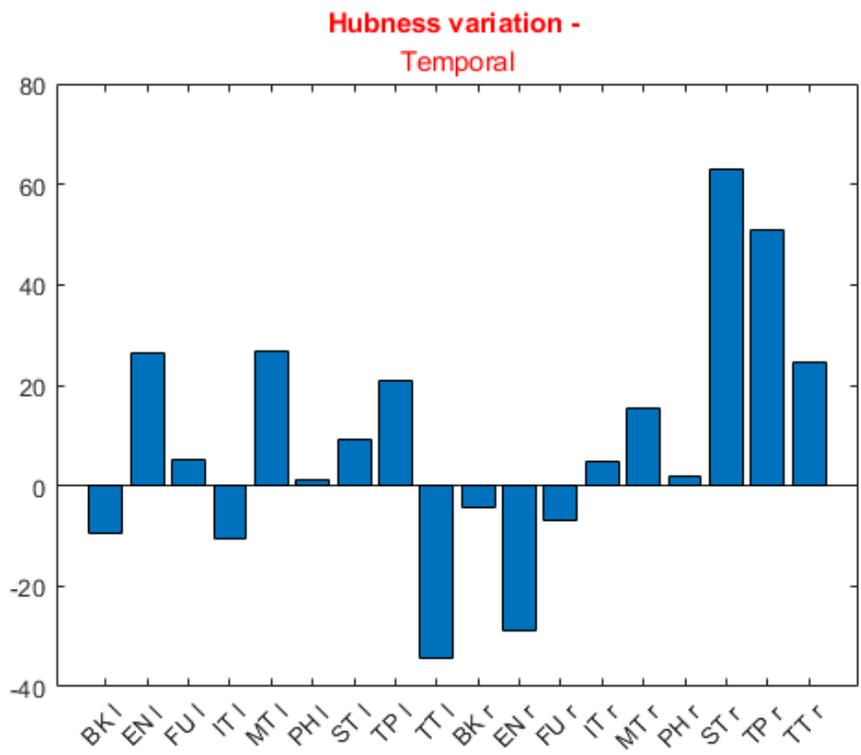


Figura 32 - Variazione percentuale della hubness fra le diverse ROI della zona temporale.

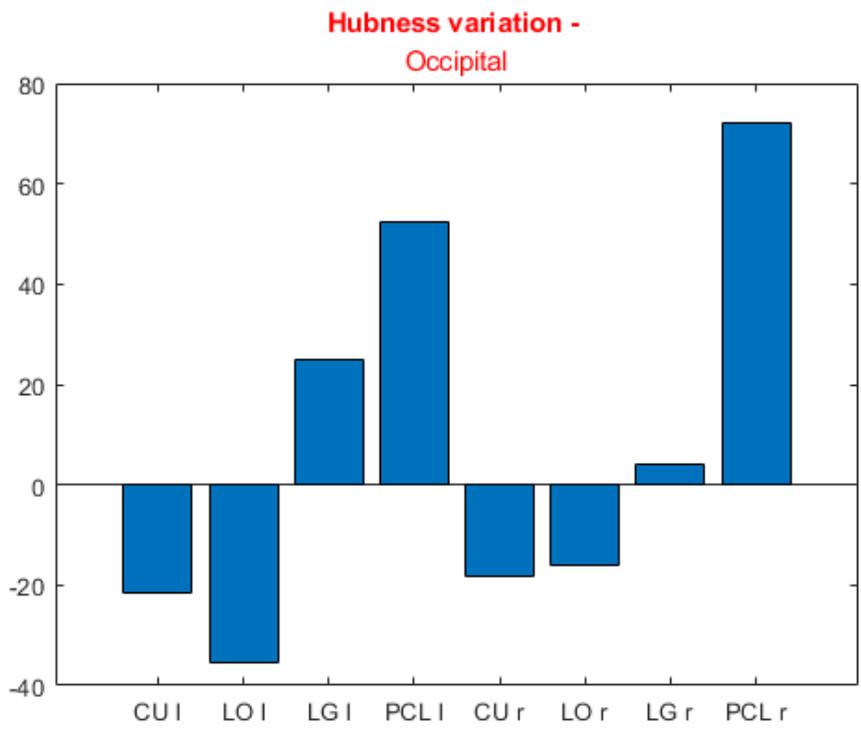


Figura 33 - Variazione percentuale della hubness fra le diverse ROI della zona occipitale.

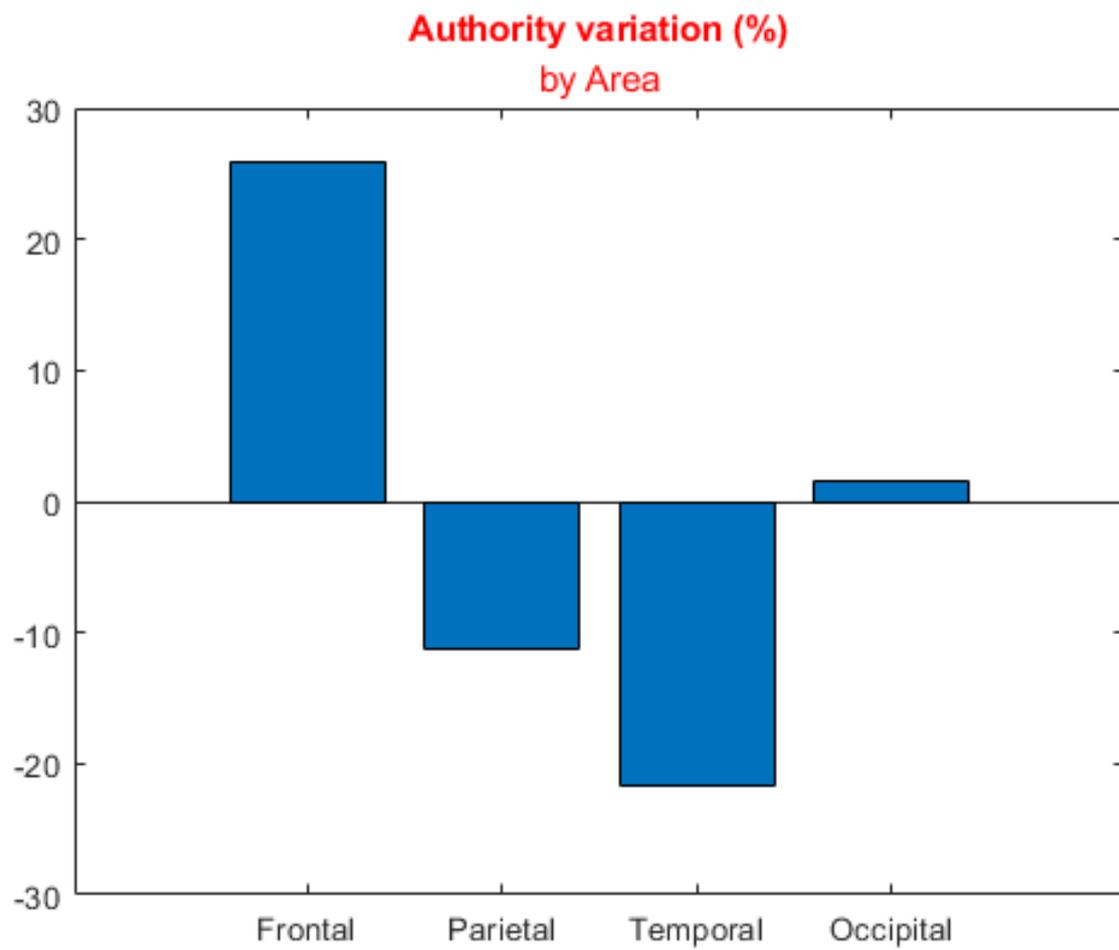


Figura 34 - Variazione percentuale della authority fra le varie macro-aree del cervello.

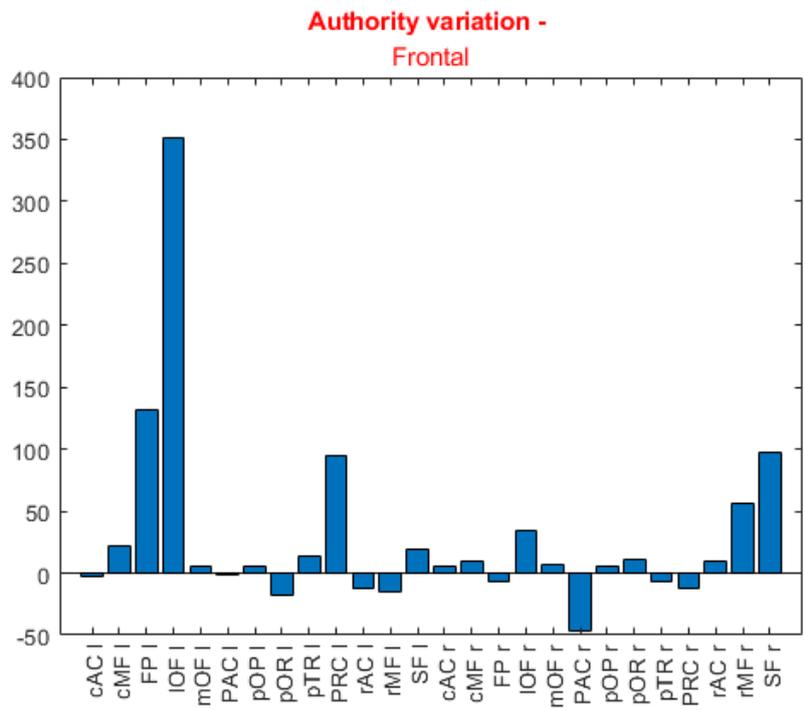


Figura 35 - Variazione percentuale della authority fra le diverse ROI della zona frontale.

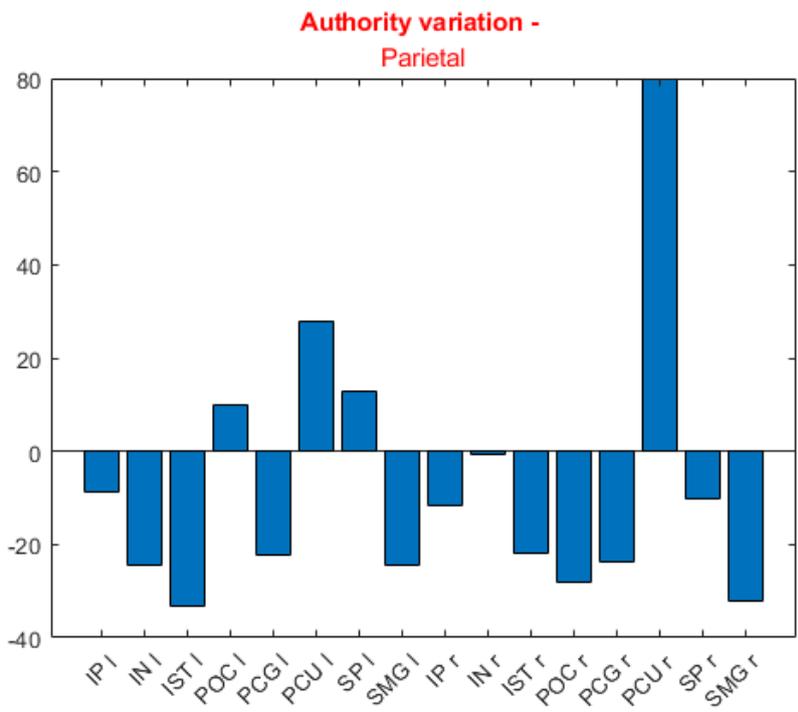


Figura 36 - Variazione percentuale della authority fra le diverse ROI della zona parietale.

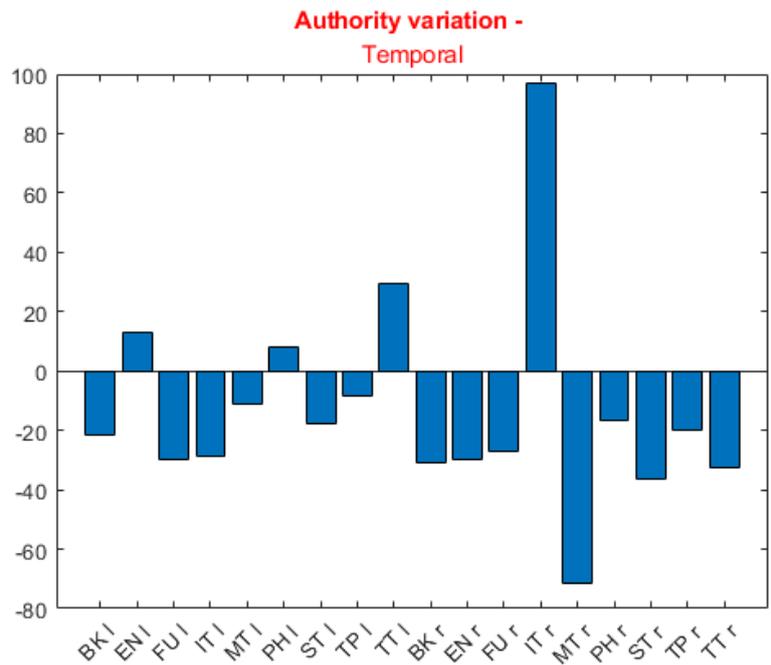


Figura 37 - Variazione percentuale della authority fra le diverse ROI della zona temporale.

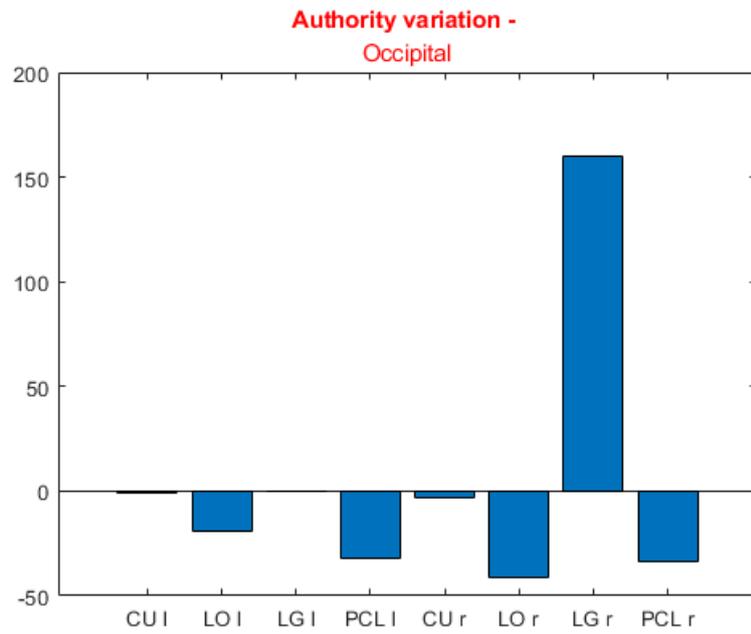


Figura 38 - Variazione percentuale della authority fra le diverse ROI della zona occipitale.

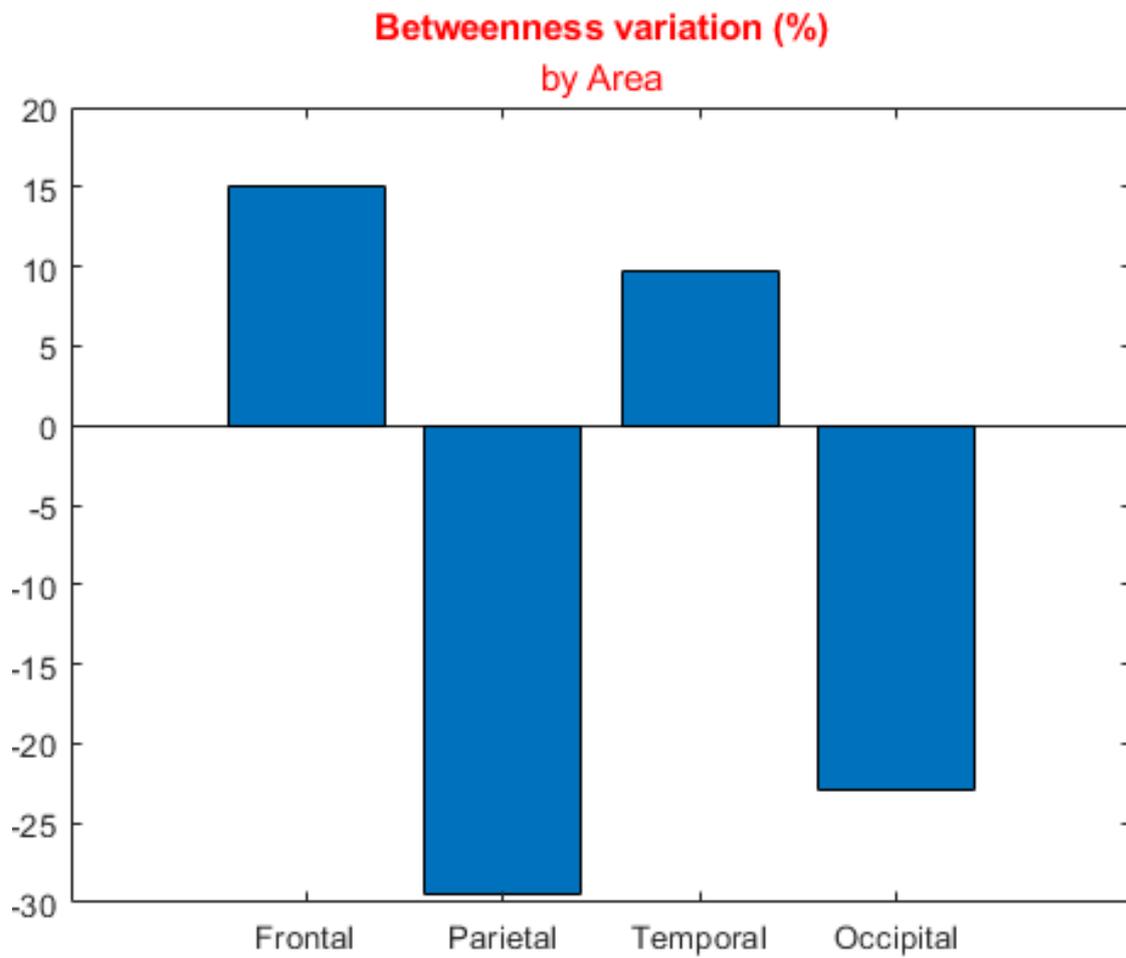


Figura 39 - Variazione percentuale della betweenness fra le varie macro-aree del cervello.

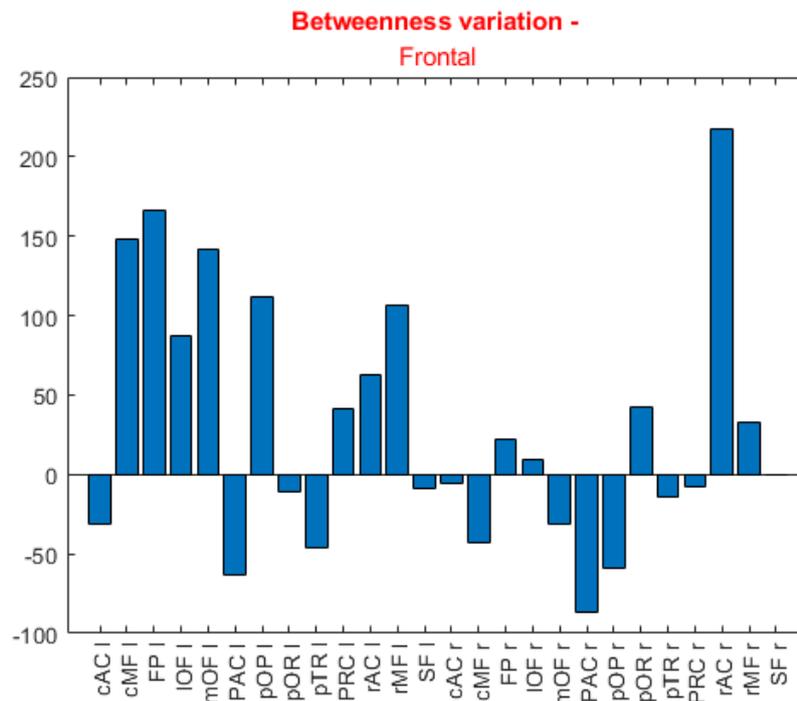


Figura 40 - Variazione percentuale della betweenness fra le diverse ROI della zona frontale.

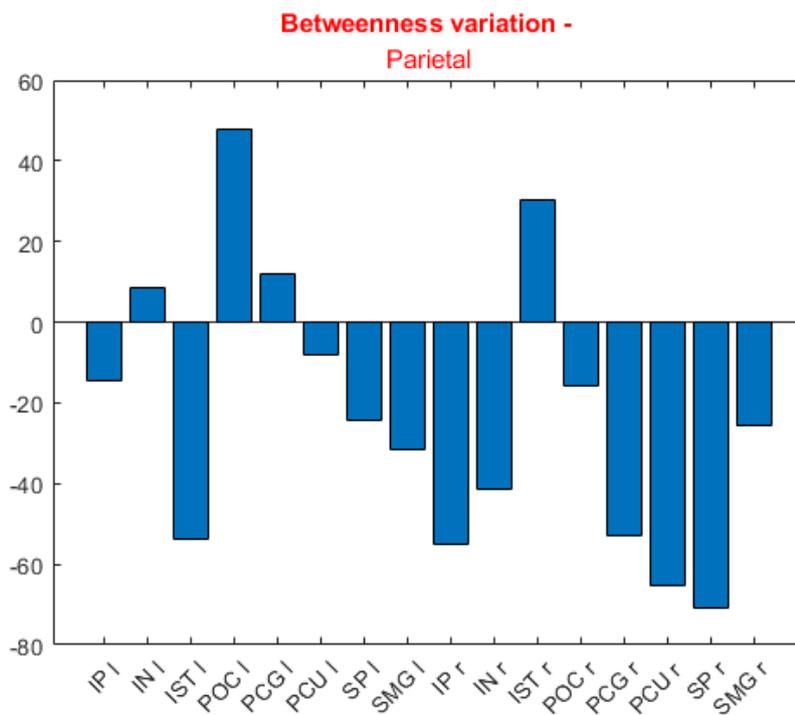


Figura 41 - Variazione percentuale della betweenness fra le diverse ROI della zona parietale.

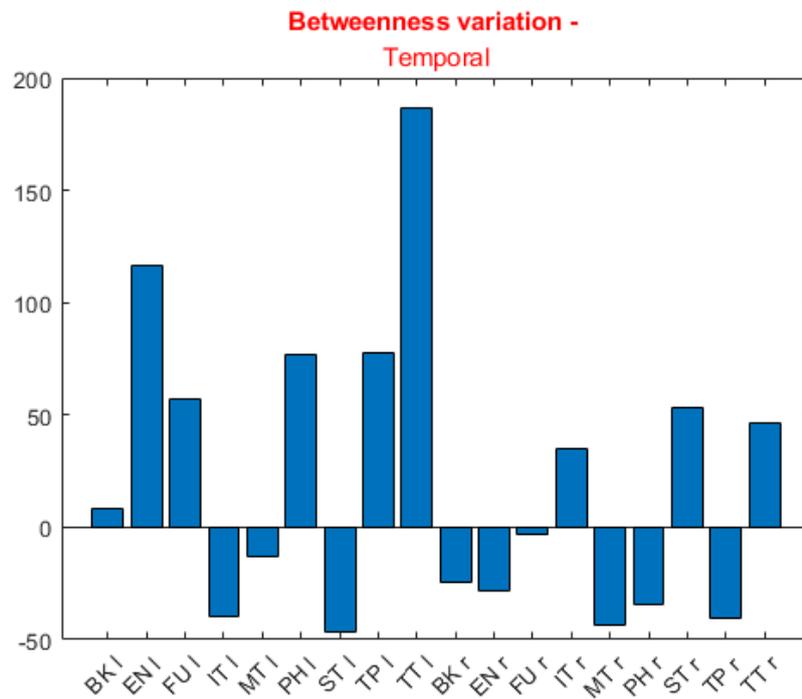


Figura 42 - Variazione percentuale della betweenness fra le diverse ROI della zona temporale.

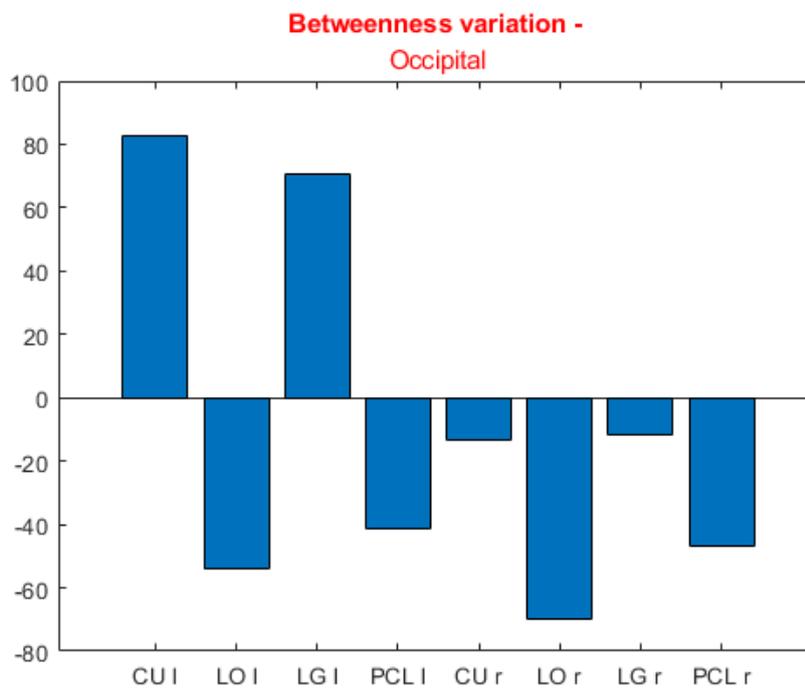


Figura 43 - Variazione percentuale della betweenness fra le diverse ROI della zona occipitale.

Per verificare la presenza/assenza di una influenza da parte degli *outliers* identificati precedentemente, i risultati della *centrality* sono stati sottoposti al medesimo *permutation test* a cui erano state sottoposte le misure di connettività (*Monte Carlo testing*, alfa critico 0.05, 5000 randomizzazioni, nessuna correzione). Il *permutation test* è stato eseguito per ciascuna misura di centralità (i.e. *authority*, *hubness*, *betweenness*) sia con impostazione *two-sided* che *single tail* (i.e. *right* e *left tail*).

I *p-value* ottenuti dal *permutation test* possono essere consultati nelle tabelle da [14] a [16]. Nelle figure [44], [45] e [46] si presentano le rappresentazioni dei risultati dei *single tail test*. Le rappresentazioni sono state realizzate al fine di poter visualizzare le regioni a *p-value* più ridotto (i.e. statisticamente più significative), nonché completare l'informazione proveniente dalle precedenti rappresentazioni dei principali nodi per ciascuna misura di *centrality*. In ogni figura sono state rappresentate le sole ROI a cui è associato un *p-value* inferiore a 0.2 (scelto in quanto compromesso accettabile fra numero di regioni rappresentate e chiarezza dell'immagine). Le ROI con *p-value* inferiore alla soglia indicata sono state rappresentate con marker circolari di diametro variabile a seconda del valore assunto dal *p-value*: un diametro di 2 è stato adottato per ROI con *p-value* compreso fra 0.2 e 0.05, un diametro di 4 per *p-value* compresi fra 0.05 e 0.01, un diametro di 8 per *p-value* inferiori a 0.01.

Hubness (Permutation results)

High>Low

Low>High

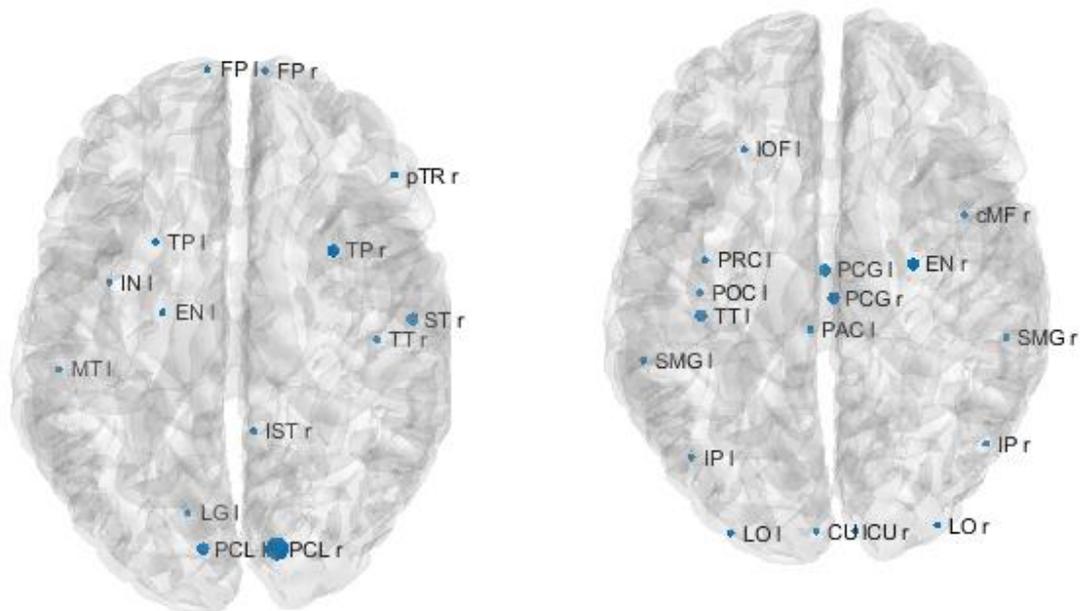


Figura 44 - Rappresentazione degli hub con significatività più elevata (p-value più ridotto) ottenuti mediante single tail Monte Carlo testing. I valori rappresentati corrispondono alle sole ROI con p-value inferiore a 0.2.

Permutation test - *hubness*

LABEL	2_SIDE	RIGHT	LEFT	LABEL	2_SIDE	RIGHT	LEFT
'BK I'	0.5003	0.75005	0.25015	'PH I'	0.936213	0.468106	0.532094
'BK r'	0.839032	0.580684	0.419516	'PH r'	0.923815	0.461908	0.538292
'cAC I'	0.84823	0.424115	0.576085	'pOP I'	0.684263	0.342132	0.658068
'cAC r'	0.975005	0.512697	0.487502	'pOP r'	0.839432	0.580484	0.419716
'cMF I'	0.909418	0.545491	0.454709	'pOR I'	0.903019	0.54869	0.45151
'cMF r'	0.24955	0.875425	0.124775	'pOR r'	0.927415	0.463707	0.536493
'CU I'	0.319936	0.840232	0.159968	'pTR I'	0.910618	0.455309	0.544891
'CU r'	0.386323	0.807039	0.193161	'pTR r'	0.276745	0.138372	0.861828
'EN I'	0.153169	0.076585	0.923615	'PCL I'	0.037992	0.018996	0.981204
'EN r'	0.085983	0.957209	0.042991	'PCL r'	0.012797	0.006399	0.993801
'FP I'	0.118376	0.059188	0.941012	'POC I'	0.236753	0.881824	0.118376
'FP r'	0.116377	0.058188	0.942012	'POC r'	0.85183	0.574285	0.425915
'FU I'	0.825435	0.412717	0.587483	'PCG I'	0.021196	0.989602	0.010598
'FU r'	0.711458	0.644471	0.355729	'PCG r'	0.052789	0.973805	0.026395
'IP I'	0.117976	0.941212	0.058988	'PRC I'	0.234353	0.883023	0.117177
'IP r'	0.225155	0.887622	0.112577	'PRC r'	0.890622	0.554889	0.445311
'IT I'	0.521896	0.739252	0.260948	'PCU I'	0.478304	0.761048	0.239152
'IT r'	0.862228	0.431114	0.569086	'PCU r'	0.558688	0.720856	0.279344
'IN I'	0.392322	0.196161	0.804039	'rAC I'	0.84943	0.575485	0.424715
'IN r'	0.973005	0.486503	0.513697	'rAC r'	0.704259	0.35213	0.64807
'IST I'	0.875825	0.437912	0.562288	'rMF I'	0.453509	0.226755	0.773445
'IST r'	0.345131	0.172565	0.827634	'rMF r'	0.75145	0.624475	0.375725
'LO I'	0.146771	0.926815	0.073385	'SF I'	0.984603	0.492302	0.507898
'LO r'	0.347131	0.826635	0.173565	'SF r'	0.785843	0.607279	0.392921
'IOF I'	0.110778	0.944811	0.055389	'SP I'	0.563087	0.718656	0.281544
'IOF r'	0.738652	0.630874	0.369326	'SP r'	0.418716	0.790842	0.209358
'LG I'	0.176765	0.088382	0.911818	'ST I'	0.646271	0.323135	0.677065
'LG r'	0.832234	0.416117	0.584083	'ST r'	0.038392	0.019196	0.981004
'mOF I'	0.407518	0.796441	0.203759	'SMG I'	0.267946	0.866227	0.133973
'mOF r'	0.668266	0.666067	0.334133	'SMG r'	0.377524	0.811438	0.188762
'MT I'	0.137572	0.068786	0.931414	'TP I'	0.284743	0.142372	0.857828
'MT r'	0.44751	0.223755	0.776445	'TP r'	0.04999	0.024995	0.975205
'PAC I'	0.134373	0.933013	0.067187	'TT I'	0.026795	0.986803	0.013397
'PAC r'	0.759448	0.379724	0.620476	'TT r'	0.358728	0.179364	0.820836

Tabella 14 - p value per le hubness valutate nelle 68 ROI definite dall'atlante Desikan-Killiany.

I risultati che sono presentati includono two side, right tail e left tail.

Authority (Permutation results)

High>Low

Low>High

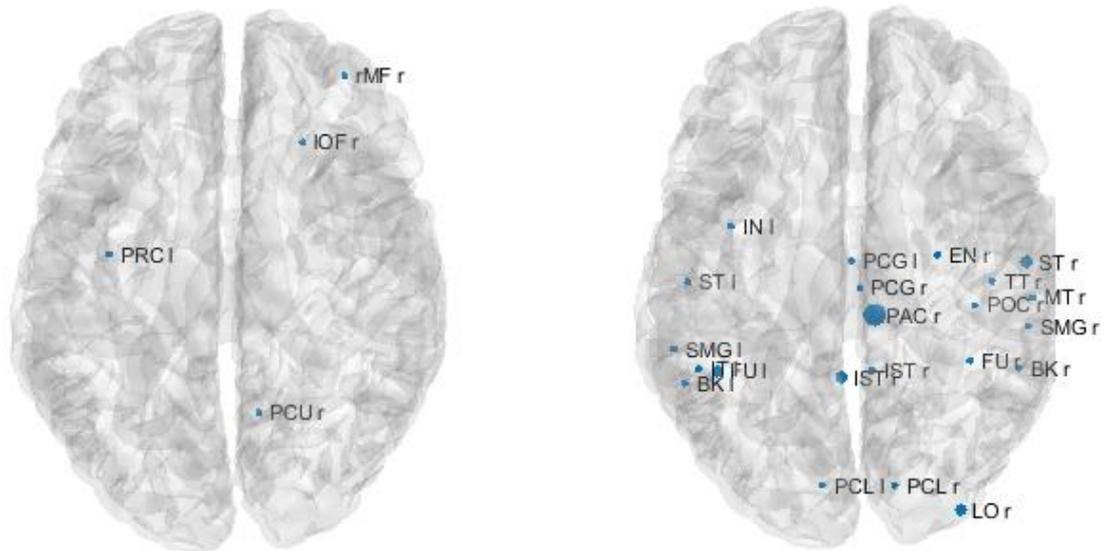


Figura 45 - Rappresentazione delle authorities con significatività più elevata (p-value più ridotto) ottenuti mediante single tail Monte Carlo testing. I valori rappresentati corrispondono alle sole ROI con p-value inferiore a 0.2.

Permutation test - *authority*

LABEL	2_SIDE	RIGHT	LEFT	LABEL	2_SIDE	RIGHT	LEFT
'BK l'	0.256749	0.871826	0.128374	'PH l'	0.729854	0.364927	0.635273
'BK r'	0.162368	0.919016	0.081184	'PH r'	0.484303	0.758048	0.242152
'cAC l'	0.923015	0.538692	0.461508	'pOP l'	0.835433	0.417716	0.582484
'cAC r'	0.833033	0.416517	0.583683	'pOP r'	0.79904	0.39952	0.60068
'cMF l'	0.669866	0.334933	0.665267	'pOR l'	0.414317	0.793041	0.207159
'cMF r'	0.69786	0.34893	0.65127	'pOR r'	0.644671	0.322336	0.677864
'CU l'	0.971806	0.514297	0.485903	'pTR l'	0.709858	0.354929	0.645271
'CU r'	0.902619	0.54889	0.45131	'pTR r'	0.763447	0.618476	0.381724
'EN l'	0.634273	0.317137	0.683063	'PCL l'	0.188362	0.906019	0.094181
'EN r'	0.20196	0.89922	0.10098	'PCL r'	0.157968	0.921216	0.078984
'FP l'	0.667067	0.333533	0.666667	'POC l'	0.774245	0.387123	0.613077
'FP r'	0.768646	0.615877	0.384323	'POC r'	0.195161	0.902619	0.09758
'FU l'	0.09798	0.95121	0.04899	'PCG l'	0.371926	0.814237	0.185963
'FU r'	0.286743	0.856829	0.143371	'PCG r'	0.328334	0.836033	0.164167
'IP l'	0.70066	0.64987	0.35033	'PRC l'	0.255549	0.127774	0.872426
'IP r'	0.560688	0.719856	0.280344	'PRC r'	0.803439	0.59848	0.40172
'IT l'	0.215957	0.892222	0.107978	'PCU l'	0.443111	0.221556	0.778644
'IT r'	0.935413	0.467706	0.532494	'PCU r'	0.378324	0.189162	0.811038
'IN l'	0.30034	0.85003	0.15017	'rAC l'	0.726655	0.636873	0.363327
'IN r'	0.985003	0.507698	0.492501	'rAC r'	0.755049	0.377524	0.622675
'IST l'	0.054389	0.973005	0.027195	'rMF l'	0.573085	0.713657	0.286543
'IST r'	0.238352	0.881024	0.119176	'rMF r'	0.103579	0.05179	0.94841
'LO l'	0.545891	0.727255	0.272945	'SF l'	0.525895	0.262947	0.737253
'LO r'	0.036393	0.982004	0.018196	'SF r'	0.694661	0.347331	0.652869
'lOF l'	0.609078	0.304539	0.695661	'SP l'	0.627475	0.313737	0.686463
'lOF r'	0.291542	0.145771	0.854429	'SP r'	0.687063	0.656669	0.343531
'LG l'	0.991002	0.495501	0.504699	'ST l'	0.357129	0.821636	0.178564
'LG r'	0.703459	0.35173	0.64847	'ST r'	0.054789	0.972805	0.027395
'mOF l'	0.843831	0.421916	0.578284	'SMG l'	0.243151	0.878624	0.121576
'mOF r'	0.829834	0.414917	0.585283	'SMG r'	0.128374	0.936013	0.064187
'MT l'	0.55029	0.725055	0.275145	'TP l'	0.741852	0.629274	0.370926
'MT r'	0.247151	0.876625	0.123575	'TP r'	0.404319	0.79804	0.20216
'PAC l'	0.94861	0.525895	0.474305	'TT l'	0.868626	0.434313	0.565887
'PAC r'	0.013597	0.993401	0.006799	'TT r'	0.126775	0.936813	0.063387

Tabella 15 - p value per le authority valutate nelle 68 ROI definite dall'atlante Desikan-Killiany.

I risultati che sono presentati includono two side, right tail e left tail.

Permutation test - *betweenness*

LABEL	2_SIDE	RIGHT	LEFT	LABEL	2_SIDE	RIGHT	LEFT
'BK l'	0.961808	0.480904	0.517497	'PH l'	0.344731	0.172366	0.827035
'BK r'	0.367526	0.813837	0.183763	'PH r'	0.322735	0.838432	0.161368
'cAC l'	0.523895	0.737453	0.261948	'pOP l'	0.44871	0.224355	0.775445
'cAC r'	0.788642	0.603079	0.394321	'pOP r'	0.35153	0.823235	0.175765
'cMF l'	0.320336	0.160168	0.839632	'pOR l'	0.766647	0.616477	0.383323
'cMF r'	0.281944	0.859028	0.140972	'pOR r'	0.694261	0.347131	0.65247
'CU l'	0.309138	0.154569	0.844631	'pTR l'	0.419916	0.789842	0.209958
'CU r'	0.693461	0.65247	0.346731	'pTR r'	0.876625	0.560488	0.438312
'EN l'	0.259548	0.129774	0.869626	'PCL l'	0.237952	0.879624	0.118976
'EN r'	0.396721	0.80104	0.19836	'PCL r'	0.319136	0.840232	0.159568
'FP l'	0.375925	0.187962	0.811638	'POC l'	0.587882	0.293941	0.705259
'FP r'	0.828234	0.414117	0.584083	'POC r'	0.64947	0.675265	0.324735
'FU l'	0.636273	0.318136	0.681064	'PCG l'	0.893021	0.446511	0.55249
'FU r'	0.856229	0.570086	0.428114	'PCG r'	0.066387	0.966207	0.033193
'IP l'	0.666267	0.667067	0.333133	'PRC l'	0.708258	0.354129	0.642272
'IP r'	0.043591	0.978204	0.021796	'PRC r'	0.819836	0.586483	0.409918
'IT l'	0.368726	0.815037	0.184363	'PCU l'	0.790642	0.602879	0.395321
'IT r'	0.681864	0.340932	0.657269	'PCU r'	0.193961	0.903019	0.096981
'IN l'	0.969806	0.484903	0.514097	'rAC l'	0.561088	0.280544	0.718856
'IN r'	0.35153	0.823235	0.175765	'rAC r'	0.225955	0.112977	0.886623
'IST l'	0.157568	0.920616	0.078784	'rMF l'	0.256349	0.128174	0.871426
'IST r'	0.676665	0.338332	0.660868	'rMF r'	0.746251	0.373125	0.624875
'LO l'	0.078784	0.960408	0.039392	'SF l'	0.84943	0.573885	0.424715
'LO r'	0.029594	0.985403	0.014797	'SF r'	0.958608	0.519296	0.479304
'IOF l'	0.325935	0.162967	0.837233	'SP l'	0.4983	0.746251	0.24915
'IOF r'	0.945811	0.472905	0.526495	'SP r'	0.065187	0.966207	0.032593
'LG l'	0.868226	0.434113	0.565887	'ST l'	0.14797	0.926215	0.073985
'LG r'	0.705059	0.646671	0.352529	'ST r'	0.80104	0.40052	0.59868
'mOF l'	0.390722	0.195361	0.80224	'SMG l'	0.541892	0.728254	0.270946
'mOF r'	0.559888	0.719056	0.279944	'SMG r'	0.490702	0.753649	0.245351
'MT l'	0.765847	0.615877	0.382923	'TP l'	0.445511	0.222755	0.776445
'MT r'	0.592282	0.703059	0.296141	'TP r'	0.206759	0.896821	0.103379
'PAC l'	0.206759	0.896021	0.103379	'TT l'	0.718656	0.359328	0.640472
'PAC r'	0.005999	0.997201	0.002999	'TT r'	0.870226	0.435113	0.564887

Tabella 16 - p value per le betweenness valutate nelle 68 ROI definite dall'atlante Desikan-Killiany. I risultati che sono presentati includono two side, right tail e left tail.

Capitolo 8 – Discussione

Nell'articolo “*The directionality of fronto-posterior brain connectivity is associated with the degree of individual autistic traits*” (Tarasi, et al., 2021), Tarasi et al. individuano con successo la predominanza di un pattern di connettività di tipo ascendente (diretto dalle regioni posteriori a quelle anteriori) negli individui con elevato tratto autistico facenti parte di un gruppo di venti. Espandendo con l'aggiunta di ulteriori venti individui il gruppo iniziale, ho potuto verificare le osservazioni inizialmente avanzate da Tarasi et al., presentando allo stesso tempo nuovi strumenti per l'interpretazione dei dati ottenuti.

8.1 Sui pattern di connettività

Come osservato nelle rappresentazioni della matrice differenza fra le matrici di connettività media normalizzata di gruppo, sembra emergere, come già suggerito da Tarasi et al. (Tarasi, et al., 2021), un distintivo pattern di connettività di tipo *top-down* per il gruppo di individui caratterizzati da un basso tratto autistico. Tuttavia, è meno evidente in soggetti ad alto tratto autistico una prevalenza di connettività *bottom-up*, dal momento che le connessioni prevalentemente osservate avvengono fra ROI appartenenti al medesimo lobo (frontale).

Se spostiamo l'attenzione alle rappresentazioni dei risultati di *Monte Carlo testing* con impostazioni *left-* e *right-tail* (che abbiamo detto fornire il *p-value* delle sole connessioni che rifiutano l'ipotesi nulla per i gruppi rispettivamente a *score* ridotto ed elevato), possiamo riscontrare immediatamente una prevalenza di connettività *bottom-up* fra le connessioni statisticamente più significative nel caso di tratto autistico elevato. Questo supporterebbe i risultati ottenuti da Tarasi et al. (Tarasi, et al., 2021).

Un certo grado di lateralizzazione delle connessioni è allo stesso tempo visibile. Per il gruppo ad alto tratto autistico le connessioni più forti si concentrano nel lobo sinistro. In maniera opposta, le connessioni più forti si concentrano nel lobo destro per il gruppo a basso tratto autistico. Avanzando l'ipotesi che la connettività funzionale ricalchi, in una certa misura, quella che è la connettività strutturale, la lateralizzazione osservata sembrerebbe confermare i risultati ottenuti da Dimond et al. (Dimond, et al., 2019), nel cui studio si osservava una ridotta connettività strutturale in presenza di DSA. Sotto

questa ottica sarebbe pertanto ragionevole supporre un certo grado di similarità fra individui della popolazione generale e casi clinici di DSA. Tuttavia, non disponendo di dati riguardo la connettività strutturale, in questo studio possiamo solamente limitarci ad assumere che i pattern di connettività funzionale osservati seguano in una certa misura quanto si verifica a livello strutturale. Nel caso ciò si verificasse, similmente a quanto osservato nel caso della connettività funzionale, dovremmo essere in grado di osservare anche in individui della popolazione generale con elevato tratto autistico una riduzione delle fibre di materia bianca, in maniera simile a quanto determinato dal gruppo di Dimond.

8.2 Sulle misure di centralità

I risultati ottenuti mediante le misure di centralità concordano con quanto osservabile dalla rappresentazione della matrice differenza. Per il caso high score, mediante le misure di *authority* e *in degree* vengono identificate come principali ROI (per valore assunto) IOF(l) e LG(r), punti di convergenza delle connessioni osservabili anche attraverso la rappresentazione delle connessioni. Nel caso low score, il valore più elevato di *authority* e *in degree* è identificato in corrispondenza di MT(r), riflettendo dunque quanto già osservabile dalla rappresentazione delle connessioni.

Dei dati interessanti vengono forniti dall'*hubness*. Ricordando che l'*hubness* è una misura delle connessioni uscenti da un nodo della rete, sorprende notare che nel gruppo ad alto score autistico vengono identificati come forti *hub* entrambi i *frontal pole*. La definizione stessa di *hubness* implica che esista una connessione fra questi e *authority* forti come IOF(l) e LG(r). Dunque, l'esistenza nel lobo frontale di nodi importanti dal punto di vista della uscita dell'informazione potrebbe implicare un maggiore rilievo delle connessioni di tipo *top-down*. Se quanto appena menzionato potesse essere verificato, allora sarebbe messa in dubbio l'ipotesi secondo la quale tratti autistici più pronunciati risultano associati ad una prevalenza di connettività *bottom-up*.

Attraverso la misura di *betweenness* è possibile confermare l'importanza di IOF(l) nel gruppo ad alto tratto autistico. Forti connessioni entranti si formano fra i differenti nodi della rete e IOF(l). Avendo impiegato come funzione costo l'inverso del link (connettività) fra i nodi della rete (ROI), l'importanza di IOF(l) diventa immediatamente chiara. In virtù delle forti connessioni (nello specifico entranti) che si instaurano, i nodi

della rete trovano nell'attraversamento di IOF(l) un percorso vantaggioso (a basso costo), determinando pertanto il valore elevato assunto dalla *betweenness* in corrispondenza di questa ROI. Per quanto riguarda il gruppo a basso score autistico, la *betweenness* mette in evidenza i nodi pOR(l) e IOF(l). Diversamente da quanto osservato nel caso del gruppo high score, MT(r), verso cui si formano forti connessioni provenienti dalle altre ROI, non emerge come principale nodo in termini di *betweenness*. Interpretando ciò da un punto di vista di connessioni, quanto si osserva potrebbe essere spiegato dalla presenza in MT(r) di connessioni entranti sì forti ma non quanto quelle osservate in IOF(l) nel caso *high score*. A causa di ciò, i percorsi passanti per MT(r), pur avendo un costo ridotto nella direzione entrante a MT(r), presenterebbero complessivamente un costo elevato quando considerata anche la direzione uscente da MT(r), così elevato da far sì che questi non risultino i percorsi più brevi disponibili (*i.e.* a costo più basso).

Quanto osservato in precedenza sulla lateralizzazione delle connessioni non sembrerebbe interessare le misure di centralità, se non limitatamente alla *authority*, dove in entrambi i casi emergono con grande forza due sole ROI (IOF(l) per il gruppo ad alto tratto, MT(r) per il gruppo a basso tratto autistico).

Concentrando la nostra attenzione sui risultati del *Monte Carlo testing* applicato alle misure di centralità, ed in particolare guardando alle sole regioni con *p-value* inferiore a 0.05 nei *single tail test*, quanto si ottiene sono le ROI riportate in tabella [17]. Come è possibile osservare, il *left tail test* fornisce un numero maggiore di *authority* e *betweenness* suggerendo una connettività per i soggetti ad alto tratto autistico. Se ci limitiamo ad osservare gli *hub* identificati, nel caso di soggetti ad alto tratto autistico

Authority		Hubness		Betweenness	
right	left	right	left	right	left
	'FU l'	'PCL l'	'EN r'		'IP r'
	'IST l'	'PCL r'	'PCG l'		'LO l'
	'LO r'	'ST r'	'PCG r'		'LO r'
	'PAC r'	'TP r'	'TT l'		'PAC r'
	'ST r'				'PCG r'
					'SP r'

Tabella 17 - Regioni identificate con p-value inferiori a 0.05 nei single tail test (Monte Carlo testing).

questi sono principalmente localizzati nelle regioni occipitali e temporali, mentre in soggetti con ridotto tratto autistico si concentrano nelle regioni parietali. Questo si accorderebbe con l'ipotesi che soggetti a basso tratto autistico abbiano una connettività prevalente *top-down* e, al contrario, in soggetti ad alto tratto autistico prevalga una connettività di tipo *bottom-up*.

8.3 Sugli *Outliers*

Se da un lato i dati ottenuti per quanto concerne i pattern di connettività sembrano accordarsi con quelli ottenuti da Tarasi nel suo lavoro, una più attenta analisi solleva quesiti sull'effettiva forma assunta dalla connettività. La forte polarizzazione dei risultati per effetto di un numero ridotto di soggetti (due nel caso del gruppo ad alto tratto autistico, uno nel caso di basso tratto autistico) contribuisce ad alimentare dubbi sulla validità dei risultati ottenuti. Per quanto sia inevitabile l'influenza sul gruppo di un numero ridotto di campioni dal valore elevato, l'entità di questi *outliers* e il grado di influenza che questi esercitano sui risultati sembrerebbero non trascurabili.

L'influenza degli *outliers* sulle rappresentazioni realizzate della matrice differenza, che si manifesta in una impressionante regolarità nei pattern di connettività, viene confermata parzialmente confermata e quantificata dalla misura di Mutua Informazione che ho precedentemente proposto.

La regolarità nelle connettività nella rappresentazione della matrice differenza, evidente considerando tutti i soggetti disponibili, è persa nel momento in cui vengono esclusi gli *outliers*. Al contrario, un pattern di connettività di tipo *top-down* emerge nel gruppo di soggetti ad alto tratto autistico (figure [47] e [48]), suggerendo un certo grado di similarità con il gruppo a basso tratto autistico.

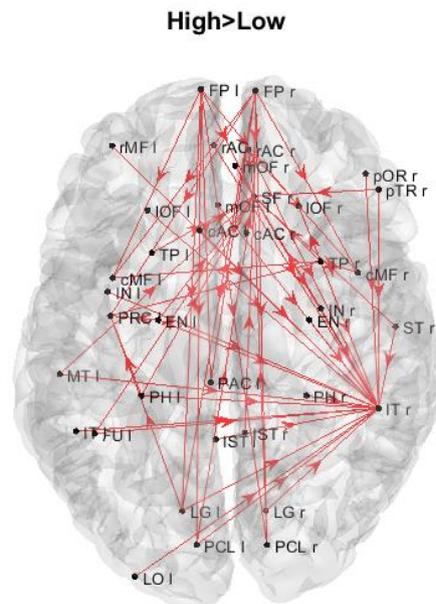


Figura 47 – Connessioni superiori ad una soglia pari 0.03% all'interno della matrice differenza. A differenza dalla figura mostrata in "Risultati", in questo caso sono stati rimossi i soggetti 25, 26 e 36, apparenti responsabili dell'andamento complessivo delle connessioni.

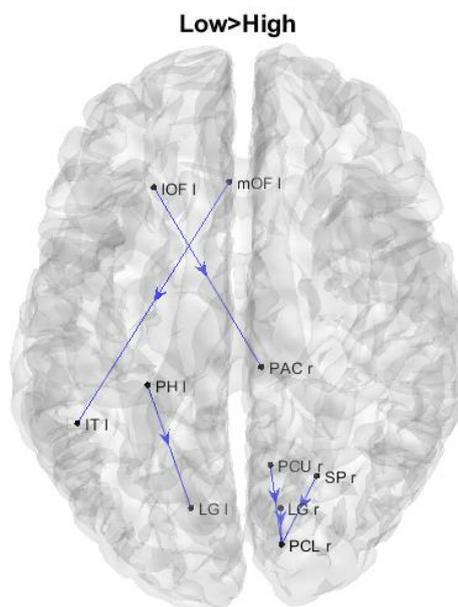


Figura 48 - Connessioni superiori ad una soglia pari 0.03% all'interno della matrice differenza. A differenza dalla figura mostrata in "Risultati", in questo caso sono stati rimossi i soggetti 25, 26 e 36, apparenti responsabili dell'andamento complessivo delle connessioni.

La presenza di questi *outliers* è sicuramente un elemento di cui tenere conto nel momento in cui si procede con l'analisi dei dati. La loro influenza sull'intero gruppo di appartenenza si manifesta in tutte le analisi e le rappresentazioni grafiche dei dati. Le misure di centralità stesse seguono quello che è il comportamento dettato da questi soggetti dotati di poche connessioni estremamente forti dirette in direzione di un unico punto. Conseguentemente, nel gruppo ad alto score autistico emergono come *authority* dal valore estremamente elevato le ROI IOF(1) e LG(r). Oppure, nel gruppo a basso score autistico osserviamo MT(r), la cui *authority* (valore: 0.054) si discosta nettamente dall'*authority* della seconda ROI dal valore più elevato (valore: 0.021). Lo stesso si osserva nel grafico della *betwenness* per il gruppo a *score* alto, dove con forza emerge IOF(1). Inoltre, a dimostrazione della possibile influenza degli *outliers* sulle misure, queste ROI sono spesso associate a *p-value* elevati. Questi valori elevati potrebbero essere sintomatici di una elevata componente randomica e pertanto una scarsa significatività. Rivolgendo la nostra attenzione ai *single tail permutation test* (in grado di fornirci un *p-value* per ogni ROI nei due gruppi a differente tratto autistico) possiamo apprezzare come, nella maggior parte dei casi, alcune delle ROI con più elevato valore di centralità per popolazioni siano spesso associati *p-value* elevati: questo si osserva nella popolazione ad alto *score* quando si applica il *right tail test* alla *authority* e nella popolazione a basso *score* nel caso di un test *left tail* sulle misure di *hubness*. Nel caso di *two sided test* il valore assunto da *p* è generalmente elevato per popolazioni ad alto tratto autistico quando si osservano *authority* e *betwenness*, e quando si guarda alla *hubness* nel caso di un basso tratto autistico. Da ciò si potrebbe evincere una scarsa significatività di risultati ottenuti in termini di *hubness* nel caso *low score*, e in termini di *authority* e *betwenness* nel caso *high score*. Nel caso di alto tratto autistico, essendo l'*authority* legata come misura alle connessioni entranti, questo coincide con le anomalie osservate nella matrice di connettività (*i.e.* forti connessioni entranti in una sola regione). Per informazioni più dettagliate si rimanda alle tabelle [18], [19], [20], [21], [22], [23].

HIGH SCORE (Hubness)

ROI label	Hubness value	2_SIDE	RIGHT	LEFT
'FP(r)'	0.028669	0.1163767	0.058188	0.942012
'FP(l)'	0.02831	0.1183763	0.059188	0.941012
'TP(l)'	0.024514	0.2847431	0.142372	0.857828
'EN(l)'	0.023797	0.1531694	0.076585	0.923615

Tabella 18 - Prime quattro ROI per valore di hubness nel gruppo ad alto tratto autistico e p-value ad esse associati. I p-value sono stati ottenuti mediante Monte Carlo testing con impostazione two side, right tail e left tail.

LOW SCORE (Hubness)

ROI label	Hubness value	2_SIDE	RIGHT	LEFT
'rAC(r)'	0.020317	0.7042591	0.35213	0.64807
'IOF(l)'	0.020243	0.1107778	0.944811	0.055389
'mOF(l)'	0.019503	0.4075185	0.796441	0.203759
'EN(l)'	0.018853	0.1531694	0.076585	0.923615

Tabella 19 - Prime quattro ROI per valore di hubness nel gruppo a basso tratto autistico e p-value ad esse associati. I p-value sono stati ottenuti mediante Monte Carlo testing con impostazione two side, right tail e left tail.

HIGH SCORE (Authority)

ROI label	Authority value	2_SIDE	RIGHT	LEFT
'IOF(l)'	0.06155	0.2915417	0.145771	0.854429
'LG(r)'	0.040344	0.7034593	0.35173	0.64847
'IT(r)'	0.030594	0.9354129	0.467706	0.532494
'SF(r)'	0.028296	0.6946611	0.347331	0.652869

Tabella 20 - Prime quattro ROI per valore di authority nel gruppo ad alto tratto autistico e p-value ad esse associati. I p-value sono stati ottenuti mediante Monte Carlo testing con impostazione two side, right tail e left tail.

LOW SCORE (Authority)

ROI label	Authority value	2_SIDE	RIGHT	LEFT
'MT(r)'	0.054796	0.2471506	0.876625	0.123575
'PAC(l)'	0.021291	0.9486103	0.525895	0.474305
'PCL(r)'	0.020951	0.1579684	0.921216	0.078984
'pOR(l)'	0.020264	0.4143171	0.793041	0.207159

Tabella 21 - Prime quattro ROI per valore di authority nel gruppo a basso tratto autistico e p-value ad esse associati. I p-value sono stati ottenuti mediante Monte Carlo testing con impostazione two side, right tail e left tail.

HIGH SCORE (Betweenness)

ROI label	Betweenness value	2_SIDE	RIGHT	LEFT
'IOF(l)'	317.26	0.3259348	0.162967	0.837233
'TT(l)'	260.84	0.7186563	0.359328	0.640472
'pOR(l)'	161.63	0.7666467	0.616477	0.383323
'rAC(r)'	149.47	0.2259548	0.112977	0.886623

Tabella 22 - Prime quattro ROI per valore di betweenness nel gruppo ad alto tratto autistico e p-value ad esse associati. I p-value sono stati ottenuti mediante Monte Carlo testing con impostazione two side, right tail e left tail.

LOW SCORE (Betweenness)

ROI label	Betweenness value	2_SIDE	RIGHT	LEFT
'pOR(l)'	192.14	0.7666467	0.616477	0.383323
'IOF(l)'	180.1	0.3259348	0.162967	0.837233
'EN(r)'	139.86	0.3967207	0.80104	0.19836
'MT(r)'	138.67	0.5922815	0.703059	0.296141

Tabella 23 - Prime quattro ROI per valore di betweenness nel gruppo a basso tratto autistico e p-value ad esse associati. I p-value sono stati ottenuti mediante Monte Carlo testing con impostazione two side, right tail e left tail.

La presenza nel gruppo ad alto *score* autistico di un numero limitato di soggetti le cui connettività elevate li separa nettamente dal resto del *data set* potrebbe spiegare quanto ottenuto dalla rappresentazione del *Monte Carlo testing* con impostazione *right-tail*. In particolare, quanto si era osservato è che fra le principali connessioni identificate come significative, tutte appartenevano al gruppo a più elevata varianza. Si potrebbe pertanto supporre che questo fatto sia conseguenza della presenza di questi *outliers*, che contribuiscono con il loro valore elevato ad alzare la varianza delle connessioni del gruppo.

Delle misure finalizzate alla riduzione dell'influenza degli *outliers* sui risultati sono state prese principalmente nel caso di misure di centralità. L'adozione di una media di gruppo sulle singole misure di centralità ottenute individualmente dai soggetti dovrebbe ridurre l'effetto degli *outliers*. Al contrario, l'adozione delle misure di centralità sulla media di gruppo delle matrici di connettività normalizzate avrebbe aumentato l'influenza degli *outliers* sulle misure di centralità. Tuttavia, l'entità stessa di queste anomalie sembra impedire la totale efficacia delle misure adottate e, inevitabilmente, una traccia più o meno forte della loro influenza rimane sui dati ottenuti.

Come menzionato in precedenza, una possibile soluzione alternativa che potrebbe essere adottata è la rimozione selettiva di questi soggetti. Questo consentirebbe di eliminare le anomalie a scapito della riduzione del *data set*. Lo svantaggio derivante dalla perdita di uno o più soggetti, in particolare nel caso di *data set* di dimensioni ridotte, potrebbe risultare insostenibile. Allo stesso tempo, all'approccio potrebbe essere mossa la valida critica di non risolvere effettivamente il problema del *bias* nei dati: la rimozione dei soggetti "trainanti" la media di gruppo potrebbe limitarsi a far emergere nuove (seppur più deboli) fonti di *bias*, fin da prima presenti ma nascoste sotto l'influenza dei soggetti rimossi. Altrettanto vero è tuttavia che, per quanto una nuova forma di *bias* possa emergere, questa potrebbe essere inferiore in magnitudo alla precedente e quindi lasciare spazio all'emergere di nuovi dati precedentemente "nascosti".

Capitolo 9 – Conclusione

Partendo da una popolazione di quaranta individui con diverse entità di tratto autistico, questo studio mirava a determinare le differenze esistenti fra i pattern di connettività in individui con basso e alto tratto autistico. Allo stesso tempo, si cercava la conferma dell'esistenza nei pattern di connettività funzionale di una continuità fra forme cliniche di DSA e casi di elevato tratto autistico individuati all'interno della popolazione generale. In base ai risultati conseguiti ad oggi dalla letteratura, ciò che si attendeva era una prevalenza di connettività *bottom-up* nel caso di un alto tratto autistico e di connettività *top-down* nel caso di un ridotto tratto autistico. L'associazione fra DSA e la presenza di una iper-connettività nel tratto *feedforward* è stata suggerita da vari autori (Amso, et al., 2014) (Karvelis, et al., 2018) (Mamashli, et al., 2021) (Khan, et al., 2015), tuttavia sono ancora pochi gli studi che mirano a verificare la continuità di questi pattern di connettività nella popolazione generale al variare del tratto autistico. Nel loro lavoro (Tarasi, et al., 2021), Tarasi et al. confermano la presenza di peculiarità nella connettività osservata in individui della popolazione generale con un alto tratto autistico, suggerendo pertanto una continuità fra forme cliniche e non di DSA. Espandendo il dataset inizialmente impiegato da Tarasi et al., questo studio si proponeva di verificare i risultati già ottenuti, differenziandosi dal suo predecessore per l'impiego della connettività di Granger temporale (originariamente si impiegava la connettività spettrale di Granger) e dalla introduzione di un ulteriore passo di elaborazione facente ricorso alla teoria dei grafi.

L'analisi della connettività temporale ci ha consentito di osservare l'effettiva presenza di un peculiare pattern di connettività in direzione *bottom-up* nel caso di soggetti con un elevato tratto autistico. Sempre in accordo con quanto inizialmente ipotizzato, una forte componente *top-down* è stata osservata in soggetti con ridotto tratto autistico. Quanto ottenuto dall'impiego della teoria dei grafi (in particolare *authority*, *hubness*, *in degree*, e *out degree*) risulta ugualmente a supporto della tesi sull'esistenza di una continuità fra le peculiarità nella connettività osservabili in soggetti diagnosticati con DSA e individui appartenenti alla popolazione generale con un elevato tratto autistico.

Seppure i dati ottenuti si accordino con quanto ipotizzato fino ad ora, la presenza di un gruppo ridotto di *outlier* in grado di guidare attraverso la propria influenza non solo le connettività medie normalizzate ma anche le misure di centralità (seppure in misura

minore) spinge ad interrogarsi sulla validità dei dati ottenuti. Infatti, nonostante chiari segni di un pattern di connettività *feedforward* siano osservabili in presenza (e per merito) di questi *outlier*, la loro prevalenza è persa nel momento in cui questi soggetti vengono rimossi dal *data set*.

Probabilmente è proprio a causa di questi *outlier* che i risultati ottenuti dall'applicazione di *Monte Carlo testing* con impostazioni *left-* e *right-tail* differiscono in maniera così significativa. Dove, in particolare, i *p-value* ottenuti dal test *right-tail* risultano complessivamente più elevati di quelli ottenuti con impostazione *left-tail*.

Rimane pertanto senza risposta il quesito riguardo quale sia la strategia con cui trattare questi dati “anomali” nonché la loro natura. È forse possibile che questi siano frutto di un errore di elaborazione dei dati? Sono originati durante l'ottenimento dei dati? Dato il numero ridotto di queste occorrenze sono portato a credere che tale non sia il caso. Comprendere la ragione che si cela dietro queste anomalie deve essere una priorità in futuri studi, sia al fine di poterle trattare correttamente che al fine di comprendere se in esse posso essere presenti nuovi dettagli che ci consentano di approfondire la nostra conoscenza riguardo DSA, in tutte le sue forme.

In conclusione, con questo studio ho voluto verificare l'ipotesi dell'esistenza di una continuità fra le caratteristiche di connettività osservate in casi clinici di DSA e quelle osservabili in soggetti appartenenti alla popolazione generale. I dati ottenuti sembrerebbero supportare tale ipotesi, tuttavia la forte influenza esercitata da un numero ridotto di *outlier* su di essi solleva degli importanti quesiti sulla affidabilità dei risultati fino ad ora ottenuti. Guardando oltre i limiti imposti dall'entrata in gioco di queste nuove variabili, questo studio propone un approccio nuovo, basato sull'impiego della connettività temporale e non spettrale (tradizionalmente preferita in quanto consente di guardare a bande specifiche). Allo stesso modo, prendendo ispirazione dal crescente successo della teoria dei grafi nell'analisi della connettività cerebrale, si è cercato di introdurre il concetto di centralità attraverso cinque misure: *in degree*, *out degree*, *authority*, *hubness* e *centrality*. L'unione di questi elementi ad elaborazioni come il *Monte Carlo testing* e a rappresentazioni grafiche dei dati ha consentito una nuova lettura dei dati ottenuti.

Considerati i limiti imposti dall'impiego della connettività temporale rispetto ad una di tipo spettrale, futuri studi dovrebbero valutare quanta dell'informazione ottenuta

da una analisi della connettività di tipo temporale è conservata qualora si ricorra invece a tecniche di tipo spettrale. Tuttavia, al fine di poter garantire la affidabilità delle analisi effettuate, sarà necessario indagare più nel dettaglio le anomalie nella connettività qui osservate. A questo fine, sostengo che l'ottenimento di nuovi dati è di fondamentale importanza. Solo esaminando nuovi casi saremo in grado di capire quale sia l'origine delle anomalie osservate e se siano un dato importante al fine di accrescere la conoscenza comune riguardo a DSA e tratti autistici nella popolazione generale.

Bibliografia

Akaike, H., 1974. A new look at the statistical model identification. *IEEE Transactions on Automatic Control*, 19(6), pp. 716-723.

Amso, D. et al., 2014. Bottom-Up Attention Orienting in Young Children with Autism. *Journal of autism and developmental disorders*, 44(3), pp. 664-673.

Asperger, H., 1938. Das psychisch abnorme Kind. *Wiener klinische Wochenschrift*, Volume 49.

Astolfi, L. et al., 2007. Imaging functional brain connectivity patterns from high-resolution EEG and fMRI via graph theory. *Psychophysiology*, 44(6), pp. 880-893.

Baron-Cohen, S. et al., 2001. The autism-spectrum quotient (AQ): evidence from Asperger syndrome/high-functioning autism, males and females, scientists and mathematicians. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 31(1), pp. 5-17.

Buzsáki, G. & Draguhn, A., 2004. Neuronal Oscillations in Cortical Networks. *Science*.

Cekic, S., Grandjean, D. & Renaud, O., 2018. Time, frequency, and time-varying Granger-causality measures in neuroscience. *Statistics in Medicine*, 37(11), pp. 1910-1931.

Coben, R., Mohammad-Rezazadeh, I. & Cannon, R., 2014. Using quantitative and analytic EEG methods in the understanding of connectivity in autism spectrum disorders: a theory of mixed over- and under-connectivity. *Frontiers in Human Neuroscience*, Volume 8.

Cordero, D., 2021. *FreeSurferWiki*. [Online]

Available at: <https://surfer.nmr.mgh.harvard.edu/fswiki/CorticalParcellation>

[Accessed 21 January 2022].

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), pp. 9-21.

- Deshpande, G. et al., 2009. Multivariate Granger causality analysis of fMRI data. *Human Brain Mapping*, 30(4), pp. 1361-1373.
- Desikan, R. S. et al., 2006. An automated labeling system for subdividing the human cerebral cortex on MRI scans into gyral based regions of interest. *NeuroImage*, 31(3), pp. 968-980.
- Dimond, D. et al., 2019. Reduced White Matter Fiber Density in Autism Spectrum Disorder. *Cerebral Cortex*, 29(4), pp. 1778-1788.
- Frith, U. & Happé, F., 2005. Autism spectrum disorder. *Current biology*, 15(19), pp. R786-790.
- Geweke, J., 1982. Measurement of Linear Dependence and Feedback Between Multiple Time Series. *Journal of the American Statistical Association*, 77(378), pp. 304-313.
- Gramfort, A., Papadopoulos, T., Olivi, E. & Clerc, M., 2010. OpenMEEG: opensource software for quasistatic bioelectromagnetics. *BioMedical Engineering OnLine*, 9(1), p. 45.
- Granger, C. W. J., 1969. Investigating Causal Relations by Econometric Models and Cross-spectral Methods. *Econometrica*, 37(3), pp. 424-438.
- Granger, C. W. J., 1980. Testing for causality: A personal viewpoint. *Journal of Economic Dynamics and Control*, Volume 2, pp. 329-352.
- Granger, C. W. J., 2001. *Essays in Econometrics: Collected Papers of Clive W. J. Granger: Volume 1: Spectral Analysis, Seasonality, Nonlinearity, Methodology, and Forecasting*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Gratiy, S. L. et al., 2017. From Maxwell's equations to the theory of current-source density analysis. *European Journal of Neuroscience*, 45(8), pp. 1013-1023.
- Haslam, J., 1809. *Observations on Madness and Melancholy: Including Practical Remarks on Those Diseases, Together with Cases, and an Account of the Morbid Appearances on Dissection*. s.l.:J. Callow.

- Hesse, W., Möller, E., Arnold, M. & Schack, B., 2003. The use of time-variant EEG Granger causality for inspecting directed interdependencies of neural assemblies. *Journal of Neuroscience Methods*, 124(1), pp. 27-44.
- Hoekstra, R. A., Bartels, M., Verweiji, C. J. H. & Boomsma, D. I., 2007. Heritability of Autistic Traits in the General Population. *Archives of Pediatrics & Adolescent Medicine*, 161(4), pp. 372-377.
- Idring, S. et al., 2014. Parental age and the risk of autism spectrum disorders: findings from a Swedish population-based cohort. *International Journal of Epidemiology*, 43(1), pp. 107-115.
- Jayarathna, S., Jayarathna, Y., Jaime, M. & Thapaliya, S., 2019. Electroencephalogram (EEG) For Delineating Objective Measure of Autism Spectrum Disorder. In: *Computational Models for Biomedical Reasoning and Problem Solving*. Hershey, PA: IGI Global, pp. 34-65.
- Kanner, L., 1943. Autistic disturbances of affective contact.
- Karvelis, P. et al., 2018. Autistic traits, but not schizotypy, predict increased weighting of sensory information in Bayesian visual integration. *eLife*, Volume 7.
- Kessler, K., Seymour, R. A. & Rippon, G., 2016. Brain oscillations and connectivity in autism spectrum disorders (ASD): new approaches to methodology, measurement and modelling. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, Volume 71, pp. 601-620.
- Khan, S. et al., 2015. Somatosensory cortex functional connectivity abnormalities in autism show opposite trends, depending on direction and spatial scale. *Brain: A Journal of Neurology*, 138(5), pp. 1394-1409.
- Kleinberg, J., 1999. Authoritative sources in a hyperlinked environment. *Journal of the ACM*, 46(5), p. 604–632.
- Klimesh, W., 2012. Alpha-band oscillations, attention, and controlled access to stored information. *Trends in Cognitive Sciences*, 16(12), pp. 606-617.

- Kolvin, I., 1971. Studies in the childhood psychoses. I. Diagnostic criteria and classification. *The British Journal of Psychiatry: The Journal of Mental Science*, 118(545), pp. 381-384.
- Lord, C. et al., 2000. The autism diagnostic observation schedule-generic: a standard measure of social and communication deficits associated with the spectrum of autism. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 30(3), pp. 205-223.
- Louis, E. K. S. et al., 2016. Appendix 6. A Brief History of EEG. In: *Electroencephalography (EEG): An Introductory Text and Atlas of Normal and Abnormal Findings in Adults, Children, and Infants*. Chicago: American Epilepsy Society.
- Lyall, K. et al., 2017. The Changing Epidemiology of Autism Spectrum Disorders. *Annual Review of Public Health*, 38(1), pp. 81-102.
- Mamashli, F. et al., 2021. Children with autism spectrum disorder show altered functional connectivity and abnormal maturation trajectories in response to inverted faces. *Autism research : official journal of the International Society for Autism Research*, 14(6), pp. 1101-1114.
- Martin, K. B. et al., 2018. Objective measurement of head movement differences in children with and without autism spectrum disorder. *Molecular Autism*, 9(14).
- Nicolaou, N., Hourris, S., Alexandrou, P. & Georgiou, J., 2012. EEG-Based Automatic Classification of 'Awake' versus 'Anesthetized' State in General Anesthesia Using Granger Causality. *PLOS ONE*, 7(3).
- Oostenveld, R., Fries, P., Maris, E. & Schoffelen, J., 2011. FieldTrip: Open Source Software for Advanced Analysis of MEG, EEG, and Invasive Electrophysiological Data. *Computational Intelligence and Neuroscience*.
- Pascual-Marqui, R. D., 2002. Standardized low-resolution brain electromagnetic tomography (sLORETA): technical details. *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology*, Volume 24 Suppl D, pp. 5-12.

- Ruta, L. et al., 2012. The Autism-Spectrum Quotient--Italian version: a cross-cultural confirmation of the broader autism phenotype. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 42(4), pp. 625-633.
- Rutter, M., 1972. *Maternal deprivation reassessed*. Oxford, England: Penguin.
- Ruzich, E. et al., 2015. Measuring autistic traits in the general population: a systematic review of the Autism-Spectrum Quotient (AQ) in a nonclinical population sample of 6,900 typical adult males and females. *Molecular Autism*, Volume 6, p. 2.
- Sakkalis, V. et al., 2006. *Time-significant wavelet coherence for the evaluation of schizophrenic brain activity using a graph theory approach*. s.l., s.n.
- Seth, A., 2007. *Granger causality*. [Online]
Available at: http://www.scholarpedia.org/article/Granger_causality
[Accessed 18 Dicembre 2021].
- Simon, D. M. & Wallace, M. T., 2016. Dysfunction of sensory oscillations in Autism Spectrum Disorder. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, Volume 68, pp. 848-861.
- Sporns, O., 2003. Graph Theory Methods for the Analysis of Neural Connectivity Patterns. In: R. Kötter, ed. *Neuroscience Databases: A Practical Guide*. Boston, MA: Springer US, pp. 171-185.
- Stam, C. J., 2004. Functional connectivity patterns of human magnetoencephalographic recordings: a 'small-world' network?. *Neuroscience Letters*, 355(1-2), pp. 25-28.
- Standring, S., 2017. *Gray's Anatomy: The Anatomical Basis of Clinical Practice*. Milano: Edra.
- Stevens, C. F., 1979. The Neuron. *Scientific American*, 241(3), pp. 54-65.
- Supekar, K. et al., 2013. Brain hyperconnectivity in children with autism and its links to social deficits. *Cell Reports*, 5(3), pp. 738-747.
- Tadel, F. et al., 2011. Brainstorm: a user-friendly application for MEG/EEG analysis. *Computational Intelligence and Neuroscience*.

Takesaki, N. et al., 2016. The contribution of increased gamma band connectivity to visual non-verbal reasoning in autistic children: A MEG study. *PLoS ONE*, 11(9).

Tarasi, L. et al., 2021. The Directionality of Fronto-Posterior Brain Connectivity Is Associated with the Degree of Individual Autistic Traits. *Brain Sciences*, Volume 11, p. 1443.

Tudor, M., Tudor, L. & Tudor, K. I., 2005. Hans Berger (1873-1941) - The History of Electroencephalography. *Acta Medica Croatica: Casopis Hrvatske Akademije Medicinskih Znanosti*, 59(4), pp. 307-313.

Woodbury-Smith, M., Robinson, J., Wheelwright, S. & Baron-Cohen, S., 331-335. Screening adults for Asperger Syndrome using the AQ: a preliminary study of its diagnostic validity in clinical practice. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 35(3), p. 2005.

Ye, A. X. et al., 2014. Atypical resting synchrony in autism spectrum disorder. *Human Brain Mapping*, 35(12), pp. 6049-6066.