

# STUDIO DELLA CONNETTIVITÀ EEG DEI FUSI DEL SONNO IN ALCUNI SOGGETTI CON DISTURBO DA DEFICIT DI ATTENZIONE E IPERATTIVITÀ (ADHD)

*A study of EEG connectivity during sleep spindles in children with attention deficit hyperactivity disorder (ADHD)*

C. Zanus<sup>1</sup>, P. D'Antrassi<sup>2</sup>, R. Giorgini<sup>3</sup>, G. Spada<sup>3</sup>, A. Accardo<sup>2</sup>, A. Skabar<sup>1</sup>, M. Carrozzi<sup>1</sup>

<sup>1</sup> SC di Neuropsichiatria Infantile, IRCCS Burlo Garofolo, Trieste; <sup>2</sup> Dipartimento di Ingegneria ed Architettura, Università degli Studi di Trieste; <sup>3</sup> Dipartimento di Scienze della Vita, Università degli Studi di Trieste

## RIASSUNTO

**Introduzione.** Il sonno è considerato un utile ambito di studio rispetto alla correlazione tra funzioni cognitive e organizzazione della rete neuronale. L'attività dei fusi viene correlata ad alcune funzioni cognitive e recentemente anche allo sviluppo emotivo.

**Obiettivo.** Individuare possibili patterns di connettività EEG nel sonno di soggetti con ADHD.

**Metodi.** Quattro soggetti con ADHD e 8 soggetti di controllo; fascia di età 7-11 anni. EEG con 21 elettrodi, riferimento bicaudale, frequenza di campionamento 512 Hz. Cinque epoche di un secondo, per ciascun soggetto, contenenti il fuso. Per estrarre le informazioni di connettività direzionale tra ogni coppia di canale è stato utilizzato il metodo spettrale multivariato della Directed Transfer Function (DTF). Per la misurazione della similitudine tra le matrici DTF è stata valutata la Cosine Similarity.

**Risultati.** In entrambi i gruppi di soggetti è presente una buona similarità intraindividuale tra le matrici di connettività, soprattutto nelle bande di frequenza theta e beta. Nel gruppo ADHD non sembrano riconoscibili patterns di connettività generalizzabili in tutte le bande considerate, e la costanza intraindividuale sembra meno definita rispetto ai controlli.

**Conclusioni.** I dati preliminari dello studio suggeriscono la possibile presenza di patterns di connettività del sonno riproducibili all'interno dello stesso soggetto.

## SUMMARY

**Introduction.** Sleep is considered a useful research area for studying the relationship between cognitive functions and neuronal networks organization. Spindles activity has been found associated with cognitive functions and more recently it has been correlated with emotional development.

**Aim of the study.** To describe EEG spindles connectivity in children with ADHD.

**Methods.** Four children with ADHD and 8 control subject; age 7-11 years. EEG with 21 electrodes, bicaudal reference, sampling rate 512 Hz. For each couple of electrodes, multivariate method of Directed Transfer Function (DTF) was applied to five spindles epochs of one second. The similarity between DTF matrices was estimated by the method of Cosine Similarity.

**Results.** In both groups there is a good intra-subject similarity, mainly in the theta and beta frequency bands. In the ADHD group a recognizable connectivity pattern was not found, in any of the frequency bands considered, and the intra-subject variability seems to be slightly higher.

**Conclusions.** The preliminary results suggest the possibility that each subject has a consistent connectivity pattern during sleep.

## INTRODUZIONE

La diagnosi del disturbo da deficit di attenzione e iperattività (ADHD) è essenzialmente clinica. Essa fa riferimento a criteri diagnostici specifici e si basa su una valutazione clinica che integra l'osservazione

diretta con un'accurata raccolta di informazioni dai diversi contesti di vita del soggetto <sup>1</sup>.

La presenza di un disturbo neurobiologico alla base di questa patologia è condivisa in letteratura ma non esiste al momento alcun marker biologico utilizzabile nella pratica clinica a supporto della diagnosi <sup>2</sup>.

### PAROLE CHIAVE

Connettività - ADHD - Sonno - Fusi

### KEY WORDS

Connectivity - ADHD - Sleep - Spindle

Tra gli accertamenti diagnostici per difficoltà di attenzione viene frequentemente eseguito un EEG in sonno, con l'indicazione di verificare, ovvero escludere, l'eventuale presenza di alterazioni nell'organizzazione dell'attività elettrica cerebrale, durante il sonno, che potrebbero essere alla base di tale deficit neuropsicologico. Al di fuori di queste condizioni specifiche, l'EEG non offre comunque, al momento attuale, elementi significativi ai fini della conferma della diagnosi clinica di ADHD<sup>3</sup>. Per lungo tempo si è tentato, in passato, di individuare e descrivere possibili caratteristiche EEG specificamente associate all'ADHD, senza tuttavia giungere a conclusioni univoche<sup>4,5</sup>.

Recentemente, l'applicazione di metodiche di analisi quantitativa del segnale EEG, e in particolare l'uso di misure di connettività funzionale, ha riaperto la discussione sull'utilità e le possibili applicazioni dell'EEG nello studio dell'ADHD<sup>6</sup>.

Il sonno, in particolare, sembra rappresentare un utile ambito di studio rispetto alla correlazione tra funzioni cognitive e organizzazione della rete neuronale<sup>7</sup>. Numerosi sono gli studi, nel campo delle neuroscienze, che esplorano la relazione tra neurofisiologia del sonno e funzioni cognitive. Di particolare interesse, in questo settore, sono considerati i fusi, elementi fisiologici del sonno riconoscibili alla registrazione EEG standard: considerata un'espressione della fisiologica organizzazione dell'attività corticale durante il sonno, l'attività dei fusi viene messa in correlazione non solo con il funzionamento cognitivo e l'apprendimento ma anche con alcuni aspetti dello sviluppo emotivo e comportamentale<sup>8</sup>.

Il presente studio nasce nel contesto di un progetto di ricerca, attualmente in corso presso la SC di Neuropsichiatria Infantile dell'I.R.C.C.S. Burlo Garofolo, che ha come obiettivo la messa a punto di un sistema automatizzato di analisi del segnale EEG che permetta di migliorare la sensibilità e specificità di questo esame e sia applicabile nella routine clinica, ad integrazione della lettura tradizionale del tracciato. Nello specifico, il presente studio si propone come approfondimento dell'analisi dell'EEG in sonno nei soggetti con ADHD, con riferimento alle nuove metodiche di analisi quantitativa del segnale proposte in letteratura per lo studio della connettività funzionale nell'ADHD. Si presentano i risultati di una fase preliminare dello

studio condotta in un primo gruppo di pazienti con ADHD, sottoposti ad EEG del sonno nel contesto degli accertamenti diagnostici eseguiti di routine in regime di day hospital o ambulatoriale. Si propone una possibile metodica di analisi del segnale e si discutono le possibili direzioni dello studio alla luce dei primi dati ottenuti.

## MATERIALI E METODI

Sono stati analizzati 4 tracciati EEG del sonno di soggetti con ADHD (3 maschi e 1 femmina, 3 casi con ADHD sottotipo iperattivo/impulsivo, uno con ADHD sottotipo inattento), nella fascia di età 7-11 anni, e 8 tracciati di controllo di soggetti, nella stessa fascia di età, afferiti alla Struttura per accertamenti diagnostici risultati poi negativi per problematiche neuropsichiatriche. Tutte le analisi sono state eseguite nella banda di frequenza completa 1-30 Hz e nelle diverse bande di frequenza: delta (1-4 Hz), theta (4-8 Hz), alfa (8-13 Hz), beta (13-30 Hz) e la banda dei fusi (11-15 Hz). Per la scrittura dell'algoritmo e la realizzazione del programma di analisi è stata utilizzata la piattaforma Matlab R2012b.

### Modalità di registrazione

Le registrazioni sono state effettuate tramite applicazione di cuffia precablata, con 21 elettrodi standard (Fp1, Fp2, F3, F4, F7, F8, Fz, C3, C4, Cz, T3, T4, T5, T6, P3, P4, Pz, O1, O2), disposti sullo scalpo secondo il sistema internazionale 10/20. È stata utilizzata una referenza biauricolare (elettrodi auricolari di riferimento A1, A2). Le impedenze sono state mantenute al di sotto dei 5KΩ. È stata applicata una frequenza di campionamento di 512 Hz. Sono stati contemporaneamente acquisiti: l'elettrooculogramma (EOG, elettrodo di superficie, a coppetta, posizionato lateralmente al canto esterno), l'elettromiogramma (EMG, elettrodo di superficie, a coppetta, posizionato a livello del muscolo deltoide sinistro), l'elettrocardiogramma (elettrodo di superficie, a coppetta, posizionato sopra la linea mediana del torace), l'attività respiratoria (PNG, trasduttore a fascia, addominale). I tracciati sono stati registrati in deprivazione di sonno, nelle prime ore del pomeriggio, con una durata minima di registrazione di 30 minuti.

## Analisi preliminare del segnale

Per ogni tracciato sono state scelte 5 epoche da analizzare, della durata di un secondo, selezionate all'interno dei fusi. Per ogni epoca sono state eseguite un'analisi FFT (*Fast Fourier Transform algorithm*), per la verifica dello spettro di frequenza, e un'analisi della densità di potenza spettrale (*Power Spectral Density*, PSD) per l'individuazione dei canali maggiormente attivi nella banda di frequenza considerata.

## Studio della connettività

Per lo studio della connettività è stato utilizzato il metodo spettrale multivariato della *Directed Transfer Function* (DTF). Dati due segnali  $i$  e  $j$ , la DTF descrive la frazione di potenza nello spettro totale del segnale  $j$  originata dal segnale  $i$ , ad una data frequenza  $f$ . Esprime cioè una misura della influenza causale del segnale  $j$  sul segnale  $i$ , normalizzata rispetto all'influenza che tutti gli altri segnali hanno sul segnale  $i$ . Essendo una misura normalizzata, la DTF assume valori tra 0 e 1. Valori pari a 0 indicano l'assenza di una influenza causale di  $i$  su  $j$ , alla frequenza  $f$ , mentre valori positivi descrivono la presenza di una causalità del segnale  $j$  su  $i$ . La DTF è considerata un metodo di stima robusto e affidabile per distinguere la direzionalità della causalità tra due segnali <sup>9</sup>.

Per ogni epoca analizzata, è stato individuato il valore massimo di DTF ( $DTF_{max}$ ), e sono state calcolate media ( $DTF_{media}$ ) e deviazione standard (ds) dei valori di DTF; è stata così stabilita una soglia di significatività ( $= DTF_{max} - 1ds$ ), in base alla quale sono state individuate le principali connessioni tra canali.

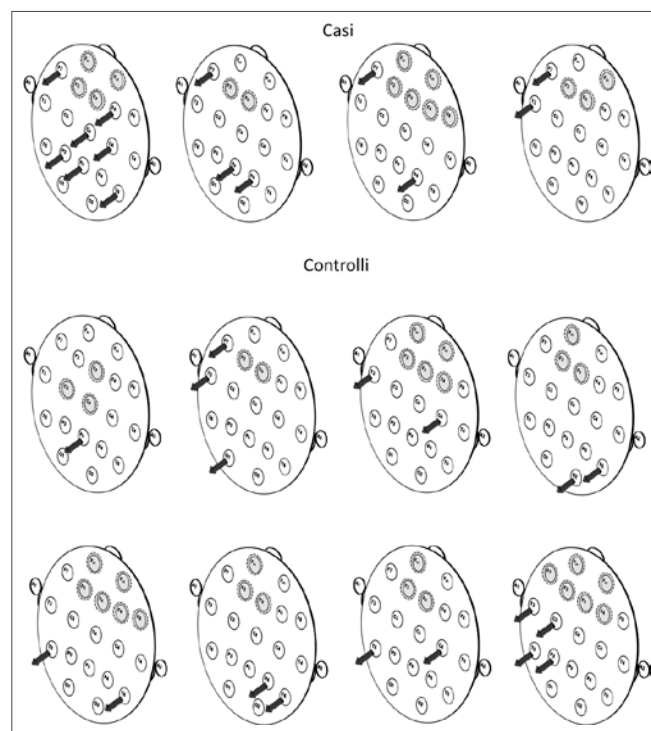
Per ogni pattern di connettività così individuato si sono quindi descritte le seguenti caratteristiche: elettrodi coinvolti nelle principali connessioni, numero totale delle connessioni, distribuzione topografica delle connessioni (sono state differenziate le connessioni intraemisferiche ed interemisferiche e sono state distinte le connessioni a partenza dall'emisfero di destra, di sinistra e coinvolgenti la linea media).

In considerazione della limitata numerosità del campione non è stata eseguita una statistica inferenziale per la quantificazione di eventuali differenze tra tali caratteristiche. Confronti, intraindividuali, tra le diverse epoche analizzate nello stesso soggetto, e interindividuali, tra i diversi soggetti, sono stati effettuati

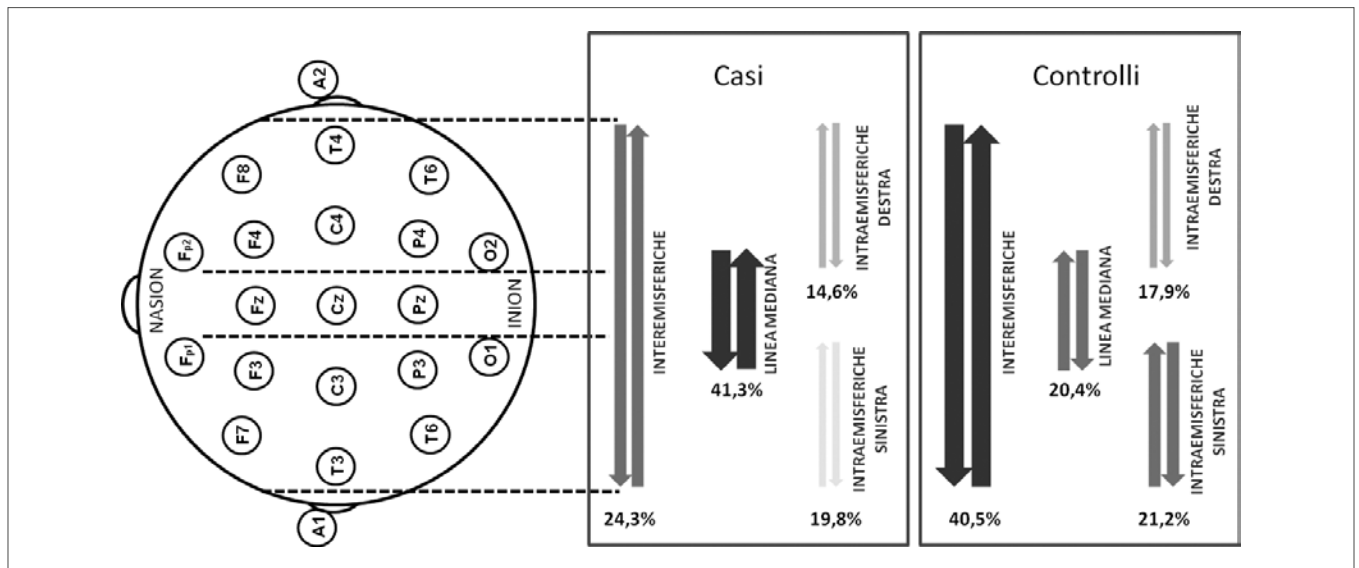
tramite il metodo del coseno di similitudine (CS, *Cosine Similarity*); il coseno di similitudine è una tecnica euristica per la misurazione della similitudine tra due vettori basata sul calcolo del coseno tra di loro; in questo caso i termini di confronto sono rappresentati dalle matrici di connettività individuate con la DTF.

## RISULTATI

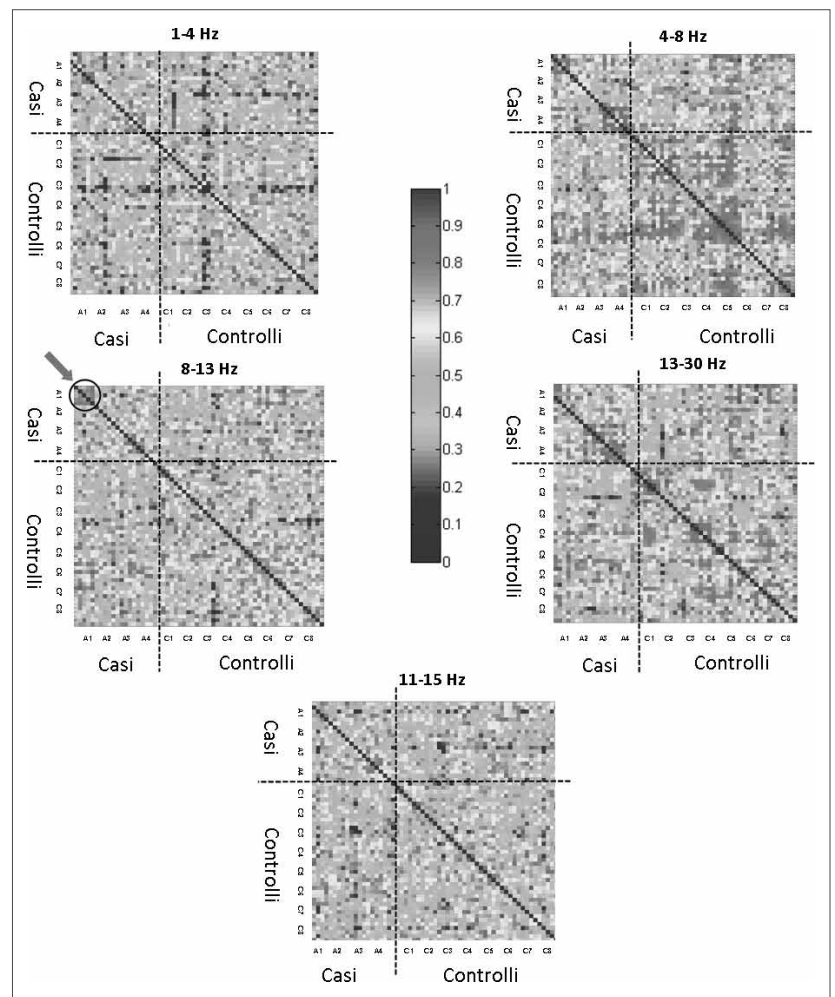
Confrontando i dati ottenuti all'analisi della PSD e quelli risultati dalla DTF si è osservato che, in genere, sia nei casi che nei controlli, le connessioni principali individuate tramite la DTF coinvolgono elettrodi diversi da quelli in cui è massima la PSD e quindi apparentemente più attivi nella banda di frequenza considerata. Nella Figura 1 sono rappresentati, ad esemplificazione, i risultati riguardanti la banda di frequenza dei fusi.



**Fig. 1.** Risultati delle analisi in base alla PSD e alla DTF rappresentati per la banda dei fusi (11-15 Hz): sono evidenziati in grigio gli elettrodi risultati maggiormente attivi in questa banda di frequenza, all'analisi della PSD; le frecce indicano gli elettrodi da cui partono le connessioni principali individuate con la DTF.



**Fig. 2.** Topografia delle connessioni principali individuate con il metodo della DTF, distinte in interemisferiche, intraemisferiche di destra, intraemisferiche di sinistra e coinvolgenti la linea mediana. I valori percentuali indicano, in ciascuna popolazione, quante connessioni inter ed intra-emisferiche sono presenti durante tutti i fusi analizzati.



**Fig. 3.** Rappresentazione grafica delle matrici di similarità per il confronto intra e inter-individuale delle DTF relative alle epoche analizzate (sono denominati con la lettera A i casi, con la lettera C i controlli). Ogni quadrato rappresenta, secondo un gradiente di colore, la similarità tra due epoche: si possono osservare le similarità tra le epoche all'interno dello stesso soggetto e tra soggetti diversi. Per esempio, nel caso A1, per la banda 8-13 Hz, la similarità fra i suoi fusi è alta (tanti quadrati rossi nel cerchio indicato dalla freccia rossa) minore rispetto ai fusi degli altri soggetti (pochi quadrati rossi lungo le linee di intersezione con i fusi degli altri soggetti).

In generale, si è riscontrato un numero maggiore di connessioni nei controlli, con connessioni più frequentemente interemisferiche; nei casi, rispetto ai controlli, le connessioni sembrano invece coinvolgere più frequentemente la linea mediana (Fig. 2).

Il confronto tramite coseno di similitudine (Fig. 3) sembra mettere in luce una buona similitudine, all'interno dello stesso soggetto, tra le epoche analizzate, mentre non sembrano riconoscibili patterns simili tra soggetti che permettano una differenziazione tra i due gruppi. La costanza intraindividuale nel pattern di connettività sembra meno definita tra i casi rispetto ai controlli.

## DISCUSSIONE

Si tratta dei risultati di una fase preliminare dello studio che vanno sicuramente interpretati con cautela ma che ci sembrano offrire alcuni interessanti spunti di riflessione. La metodologia proposta si pone nell'ottica di individuare una tecnica di analisi applicabile nel contesto della pratica clinica. L'osservare che gli elettrodi che risultano più attivi all'analisi della potenza spettrale del segnale, coerentemente con quanto "appare" alla lettura standard del tracciato, siano spesso diversi da quelli coinvolti nelle connessioni principali evidenziate all'analisi della connettività, ci sembra sostenere l'interesse verso l'applicazione di metodiche di analisi del segnale che considerano le possibili correlazioni tra i segnali registrati e tentano di estrarre dal tracciato informazioni nuove e diverse rispetto alla lettura tradizionale<sup>5</sup>.

Entrando nello specifico, dai risultati ottenuti non sembrano riconoscibili patterns di connettività generalizzabili all'interno del gruppo ADHD; complessivamente, i dati sembrano suggerire la presenza di patterns riproducibili all'interno dello stesso soggetto: sembra esserci una costanza intraindividuale, nell'organizzazione delle connessioni, che caratterizzerebbe il soggetto piuttosto che la patologia. Se confermata, l'osservazione di una minore costanza, nel pattern di connettività, all'interno del gruppo ADHD, potrebbe essere interpretata come l'espressione di una variabilità nel funzionamento delle reti neuronali durante il sonno, il cui significato patologico potrebbe essere quello di una differente organizzazione dell'attività corticale in risposta ai fisiologici fenomeni di attivazione talamo-corticale che caratterizzano il sonno, particolarmente durante i fusi.

Un confronto con la letteratura è difficile al momento attuale; gli studi di connettività, a partire dal segnale EEG, nell'ADHD, riguardano infatti soprattutto la condizione di veglia, a riposo e nel corso della somministrazione di prove attentive<sup>5 10</sup>. Pur essendo l'associazione tra disturbi del sonno e ADHD ampiamente documentata e discussa, sia nell'esperienza clinica che nei dati riportati in letteratura<sup>11</sup>, gli studi di connettività EEG in sonno al momento sono pochi. Le associazioni descritte riguardano piuttosto la qualità e continuità del sonno, meno conosciuta è la correlazione con aspetti specifici della microstruttura del sonno e in particolare con l'attività dei fusi.

Nell'ADHD erano state analizzate, in passato, le caratteristiche dei fusi, in termini di numerosità, localizzazione e frequenza, riportando tuttavia dati discordanti. Attualmente, l'interesse per lo studio dei fusi è sostenuto dalla crescente letteratura in merito alle possibili correlazioni tra l'attività dei fusi e le capacità cognitive e di apprendimento, considerando i fusi come un indice di maturazione corticale che segue una linea evolutiva che accompagna la crescita del soggetto<sup>12 13</sup>. In questo senso i fusi sono considerati un marker dello sviluppo non solo cognitivo e intellettuale ma anche emotivo e comportamentale<sup>14</sup> e l'applicazione di misure di connettività potrebbe rappresentare un utile approccio allo studio delle possibili modificazioni nell'organizzazione dell'attività corticale che accompagnano l'attività dei fusi.

Una direzione futura del presente studio, che verrà esteso ad un numero più ampio di soggetti, sarà quella di analizzare fasi differenti del sonno con l'obiettivo di valutare se e come si modifica il pattern di connettività con l'attività dei fusi, considerando epoche ravvicinate, precedenti e successive, al fuso, ricercando eventuali specificità della patologia nelle modificazioni del pattern di connettività in risposta al complesso fenomeno del fuso.

## Bibliografia

- 1 American Psychiatric Association. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*. Fifth edition (DSM-5). Arlington, VA: American Psychiatric Publishing 2013.
- 2 Tripp G, Wickens JR. *Neurobiology of ADHD*. *Neuropharmacology* 2009;57:579-89.

- <sup>3</sup> Barry RJ, Clarke AR, Johnstone SJ. *A review of electrophysiology in attention-deficit/hyperactivity disorder: I. Qualitative and quantitative electroencephalography.* Clin Neurophysiol 2003;114:171-83.
- <sup>4</sup> Lenartowicz A, Loose SK. *Use of EEG to Diagnose ADHD.* Curr Psychiatry Rep 2014;16:498.
- <sup>5</sup> Loo SK, Makeig S. *Clinical Utility of EEG in Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder: a research update.* Neurotherapeutics 2012; 9:569-87.
- <sup>6</sup> De La Fuente A, Xia S, Branch C, et al. *A review of attention-deficit/hyperactivity disorder from the perspective of brain networks.* Front Hum Neurosci 2013;15:7-192.
- <sup>7</sup> Hobson JA, Pace-Schott EF. *The cognitive neuroscience of sleep: neuronal systems, consciousness and learning.* Nat Rev Neurosci 2002;3:679-93.
- <sup>8</sup> Astori S, Wimmer RD, Lüthi A. *Manipulating sleep spindles – expanding views on sleep, memory, and disease.* Trends Neurosci 2013;36:738-48.
- <sup>9</sup> Blinowska KJ. *Review of the methods of determination of directed connectivity from multichannel data.* Med Biol Eng Comput 2011;49:521-9.
- <sup>10</sup> Snyder, S.M., Hall, J.R. *A meta-analysis of quantitative EEG power associated with attention-deficit hyperactivity disorder.* J Clin Neurophysiol 2006;23:440-55.
- <sup>11</sup> Konofal E, Lecendreux M, Cortese S. *Sleep and ADHD.* Sleep Medicine 2010;11:652-8.
- <sup>12</sup> Fogela SM, Smith CT. *The function of the sleep spindle: A physiological index of intelligence and a mechanism for sleep-dependent memory consolidation.* Neuroscience and Biobehavioral Reviews 2011;35:1154-65.
- <sup>13</sup> Tarokh L, Carskadon MA, Achermann P. *Developmental changes in brain connectivity assessed using the sleep EEG.* Neuroscience 2010;171:622-34.
- <sup>14</sup> Mikoteit T, Brand S, Beck J et al. *Visually detected NREM Stage 2 sleep spindles in kindergarten children are associated with current and future emotional and behavioural characteristics.* J Sleep Res 2013;22:129-36.

#### **CORRISPONDENZA**

Caterina Zanusi, SC di Neuropsichiatria Infantile, IRCCS Burlo Garofolo, via dell'Istria 65, 34146 Trieste - Tel. +39 040 3785302 - E-mail: caterina.zanus@burlo.trieste.it