

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PARMA
DOTTORATO DI RICERCA IN NEUROSCIENZE

CICLO XXIV

**L'EEG ad alta densità nello studio del Meccanismo Specchio
in età evolutiva.**

Due ricerche empiriche condotte su bambini a Sviluppo Tipico e con
Disturbo dello Spettro Autistico.

Coordinatore: Chiar.mo Prof. Vittorio Gallese

Tutore: Chiar.mo Prof. Vittorio Gallese

Dottoranda: Cristina Berchio

1. Introduzione:

1.1 Il Meccanismo Specchio in età evolutiva

1.2 Il Meccanismo Specchio nel Disturbo dello Spettro Autistico

1.2.1 Modelli esplicativi nel Disturbo dello Spettro Autistico

1.2.2 Implicazioni del Meccanismo Specchio nel DSA

1.3 L'EEG ad alta densità

1.3.1 Dai primi sistemi EEG ai sistemi ad Alta Densità.

1.3.2 Nuovi traguardi: la localizzazione delle sorgenti cerebrali

1.3.3 L'EEG nello studio del Meccanismo Specchio

1.3.3.1 La panoramica attuale

1.3.3.2 L'EEG e il Meccanismo Specchio in età Evolutiva

2. Due ricerche empiriche sul Meccanismo Specchio in età evolutiva

2.1 Studio uno: Come i bambini con Disturbo dello Spettro Autistico comprendono le nostre azioni

2.1.1 Materiali e Metodi

2.1.2 Risultati

2.1.3 Discussione

2.2 Studio due: circuiti parieto-frontali in età evolutiva, durante l'osservazione di atti motori visibili o parzialmente oscurati

2.2.1 Materiali e Metodi

2.2.2 Risultati

2.2.3 Discussione

3. Conclusioni

4. Bibliografia

1. Introduzione

1.1 Il Meccanismo Specchio in età evolutiva

I Neuroni Specchio, originariamente scoperti nella corteccia pre-motoria del macaco (Gallese et al. 1996, Rizzolatti et al. 1996), sono una particolare classe di neuroni che si attivano, sia quando una scimmia esegue un atto motorio, sia quando osserva un altro individuo eseguire il medesimo atto motorio. Diverse evidenze empiriche hanno dimostrato che il Meccanismo Specchio (MS) (un meccanismo capace di mappare una descrizione sensoriale sulla relativa rappresentazione motoria) è presente in altre regioni del sistema motorio corticale, quali, la corteccia motoria primaria (Dushanova et al., 2010) e la corteccia parietale (Fogassi et al., 2005).

Successivamente, sono state presentate numerose evidenze empiriche a favore dell'esistenza di un meccanismo di rispecchiamento visuo-motorio anche nell'uomo (per una rassegna, si veda Rizzolatti e Sinigaglia, 2010). Nell'uomo, principalmente attraverso studi di neuro-immagine, è stato descritto un sistema di aree con proprietà Specchio omologhe a quelle descritte nella scimmia: il giro frontale inferiore, la corteccia ventrale premotoria, la corteccia primaria motoria, la corteccia parietale posteriore.

Il MS ha suscitato da subito un enorme interesse per le implicazioni cognitive sociali che ne potevano derivare. Per questo, è stato ipotizzato che il MS sia alla base di una forma molto semplice di cognizione sociale: una cognizione motoria (Gallese et al., 2009; Gallese et al., 2012). Ipotesi che si fonda sull'idea che possa esistere una cognizione fondata sull'organizzazione funzionale del nostro sistema motorio: nella misura in cui, nel sistema motorio gli atti motori/azioni sono rappresentati in relazione al loro fine, l'attivazione durante l'osservazione di una azione del corrispondente programma motorio, consentirebbe all'individuo di cogliere immediatamente il significato di base del comportamento altrui. La cognizione motoria si delinerebbe in termini pre-reflessivi, automatici e di simulazione. In uno studio recente è stato dimostrato che l'organizzazione del sistema motorio intorno a scopi specifici, sembra essere una caratteristica presente ancora prima della nascita. Zoia et al.

(2007) ha dimostrato che a circa 22 settimane di gestazione, il livello di pianificazione motoria nel feto è già simile a quello relativo all'esecuzione di "azioni intenzionali". In un altro studio intrauterino condotto su feti gemelli (Castiello et al., 2010), è stato comprovato che dalla 14 settimana di gestazione i movimenti diretti verso di sé o finalizzati a toccare il corpo del gemello, mostrano un profilo cinematico (ad esempio, durata del movimento più lungo, tempo di decelerazione) che differisce significativamente dalla manifestazione di altri movimenti casuali.

In generale, oggi sembra possibile sostenere che l'esistenza di un meccanismo di rispecchiamento motorio sia già presente nei bambini di pochi mesi (si veda, Marshall, Meltzoff 2011). Tuttavia, le conoscenze sul MS in età evolutiva sono esigue e le relative proprietà funzionali sono in grande parte sconosciute. In generale, gli aspetti che destano maggiore interesse e a cui gli studiosi cercano di trovare una risposta sono: 1. Il peso dell'esperienza nel plasmare le proprietà del MS. 2. Il ruolo funzionale in ottica evolutiva di questo meccanismo.

Per quanto riguarda il primo quesito, l'idea che il MS sia presente da subito negli esseri umani si basa principalmente sul fatto che i neonati sembrano possedere, sin dalla nascita, delle capacità imitative (Meltzoff & Moore, 1977, 1983) e tale competenza imitativa è ritenuta essere almeno in parte basata su un meccanismo diretto di rispecchiamento visuo-motorio (Wohlschlagel & Bekkering, 2002). Quando viene presentata una espressione del viso, la prima reazione del neonato è di muovere le regioni omologhe del proprio volto (Meltzoff & Moore, 1977); dato che le informazioni propriocettive sono l'unica via da cui i neonati possono trarre indicazioni sui propri movimenti, questi dati sembrano sostenere la tesi che le azioni svolte "dal sé" e "dagli altri" siano mappate su uno schema corporeo comune. Se la capacità imitativa comporta la presenza di un meccanismo capace di tradurre una descrizione sensoriale in termini di programma motorio, il MS sembra delinearci come meccanismo ideale per tale processo (si veda, Rizzolatti e Fabbri-Destro, 2008). Diverse evidenze empiriche, ottenute da studi di neuro-immagine, in partecipanti adulti, hanno supportato il ruolo del MS nei processi imitativi (Iacoboni et al., 1999; Koski et al., 2002; Buccino et al., 2004).

Tuttavia, l'esistenza di una qualche forma innata di meccanismi di corrispondenza sensori-motoria, eventualmente basata su un MS, non implica in alcun modo che altri processi di apprendimento non possano avere luogo (Bonini e Ferrari, 2011). Infatti, un altro aspetto basilare nella comprensione dell'ontogenesi del MS, è il ruolo che l'esperienza può esercitare nel suo sviluppo o nello specifico nel plasmare le sue caratteristiche salienti.

Gallese (et al. 2009) ha ipotizzato che, un MS innato e rudimentale, sia già presente alla nascita: nel periodo prenatale si svilupperebbero specifiche connessioni tra i centri di controllo motorio della bocca e dei comportamenti di mano diretti ad uno scopo, e regioni cerebrali destinate a diventare dopo la nascita sede di input visivo. Tali connettività fornirebbero i presupposti per la presenza di modelli funzionali, in specifiche aree del cervello, che una volta raggiunte da informazioni visive, sarebbero pronte a rispondere in modo specifico all'osservazione di movimenti biologici: sia della mano, sia di espressioni facciali. In altre parole, per mezzo dello sviluppo di connettività specifiche tra regioni motorie e visive, durante la fase tardiva della gestazione, i neonati e i bambini sarebbero pronti ad imitare i gesti che vedono svolti da altri adulti e sarebbero dotati delle risorse neurali che permettono lo svolgersi di complessi comportamenti interpersonali (come lo scambio dei turni nelle proto-conversazioni) che caratterizzano la nostra vita post-natale fin dal suo inizio. Secondo questa ipotesi, il MS potrebbe dunque essere successivamente modulato in modo flessibile dall'esperienza motoria, e progressivamente arricchito dalle esperienze di apprendimento visuo-motorio.

Di fatto, in molte ricerche, sia condotte su partecipanti adulti, (Calvo-Merino et al., 2005; Calvo-Merino et al., 2006), sia in bambini di pochi mesi (van Elk et al.; 2008; Reid et al., 2011) è stato dimostrato che le nostre “esperienze” pregresse modulano il funzionamento del MS. Tesi che trova supporto da una serie di esperimenti in psicologia dello sviluppo che hanno mostrato l'effetto fondamentale nello sperimentare una azione per la comprensione del relativo scopo (Woodward et al. 1998; Sommerville et al., 2005a; Sommerville et al., 2005b). Se le esperienze sensori-motorie hanno un ruolo cruciale nel modellare le traiettorie di sviluppo del MS è possibile ipotizzare che l'integrazione visuo-motoria di questo meccanismo segua diverse traiettorie evolutive, per effettori differenti (mano a bocca), e che queste diverse traiettorie evolutive possano manifestare sensibilità diverse alle nostre esperienze (Casile et al. 2011). Tuttavia, ogni teoria cerca di spiegare che lo sviluppo del MS deve tener conto del fatto che il cervello va incontro a trasformazioni rapide e significative dai primi mesi, ai primi anni di vita: per questo diviene essenziale stabilire una sorta di “calendario evolutivo” preciso per lo sviluppo del MS (Reid et al., 2011).

Come è stato introdotto, molto autori hanno riportato evidenze, sfumature del MS in bambini di pochi mesi, ma di fatto che cosa si sa oggi per i bambini di età scolare? E' stato sottolineato (Marschall e Meltzoff, 2011) che la maggior parte delle evidenze empiriche, per i bambini di età scolare, proviene da studi che hanno indagato il MS nel Disturbo dello Spettro Autistico

(Oberman et al. 2005, Oberman et al. 2008; Raymaekers et al., 2009; Fan et al., 2010). Inoltre, la maggior parte degli studi che si sono focalizzati sulla fascia di età scolare hanno riportato pattern di attivazioni molto simili a quelli descritti negli adulti (si veda, Marshall e Meltzoff, 2011), impiegando come tecnica di indagine privilegiata l'elettroencefalografia (EEG). Di seguito, nella sezione dedicata alla descrizione degli studi EEG in età evolutiva, verrà presentata una rassegna dettagliata dei risultati ottenuti nello studio del MS.

1.2 Il Meccanismo Specchio nel Disturbo dello Spettro Autistico

1.2.1 Modelli esplicativi nel Disturbo dello Spettro Autistico

Il Disturbo dello Spettro Autistico (DSA) è un disordine dello sviluppo neurologico che si verifica con una frequenza di 1 bambino ogni 150. Sebbene con differenze consistenti nei loro profili clinici, le persone con DSA presentano difficoltà in tre ambiti specifici: interazione sociale, comunicazione verbale e non, repertorio di interessi ristretti e comportamenti stereotipati (APA, 2000). In altre parole, nelle persone con autismo tutte le abilità che per noi sono necessarie per stabilire e regolare le interazioni sociali con successo sembrano essere compromesse (Gallese et al., 2012).

Occorre precisare che con l'uscita del DSM-5 nel 2013, l'autismo verrà rappresentato da una singola categoria diagnostica, ritenuta meglio rappresentare le caratteristiche cliniche individuali (ad esempio, severità, abilità verbale) e le possibili condizioni associate (ad esempio, disordini genetici conosciuti, epilessia, disabilità intellettuale) (APA, 2013). Sarà dato dunque un nuovo nome alla categoria: Disturbi dello Spettro Autistico, che includerà il Disturbo Autistico (autismo), la Sindrome di Asperger, il Disturbo Disintegrativo dell'Infanzia e i Disturbi Pervasivi dello Sviluppo Non Altrimenti Specificati. Un cambiamento motivato dal fatto che la distinzione tra i diversi disturbi è stata trovata inconsistente nel tempo, variabile tra i diversi luoghi in cui è stata effettuata la diagnosi, e spesso associata alla severità, al livello linguistico o all'intelligenza invece che alle caratteristiche specifiche dei diversi disturbi. Alla luce di tali nuove indicazioni, nella presente tesi si parlerà esclusivamente di DSA, precisando il funzionamento cognitivo e le caratteristiche cliniche del nostro campione.

Le evoluzioni cliniche progrediscono in parallelo alle nuove scoperte relative all'eziologia di questo disturbo e ai relativi modelli esplicativi. Negli ultimi anni, molti studiosi si sono focalizzati sulla individuazione di una plausibile causa genetica per il DSA, tuttavia, le cause effettive del disturbo sono ancora controverse. Per lungo tempo l'insensibilità dei genitori verso i loro bambini è stata suggerita come causa del DSA (Bettelheim, 1959, 1976). Tuttavia,

senza minimizzare il contributo nello sviluppo di fattori ambientali e relazionali, l'ipotesi che collega il DSA ad un fallimento precoce di relazione è stata progressivamente abbandonata.

Successivamente, alcuni modelli si sono focalizzati sul profilo cognitivo di queste persone, teorizzando appunto un profilo peculiare e distinto nel DSA. In uno di questi modelli è stata sostenuta la tesi di uno stile percettivo-cognitivo differente nel DSA: uno stile “frammentato” che indurrebbe le persone con autismo ad una percezione accurata dei dettagli, ma a scapito di una percezione globale delle cose e della realtà in generale (ipotesi della “debole coerenza centrale”) (Happé e Frith, 1996). Altri autori (Pennington et al., 1996) hanno poi sostenuto che i sintomi del DSA sarebbero determinati da un deficit delle funzioni esecutive quali capacità di pianificazione, flessibilità cognitiva, inibizione di risposte irrilevanti. Un'altra ipotesi molto famosa è poi quella del deficit della Teoria della Mente (Baron-Cohen et al., 1995; Baron-Cohen, 1995), in cui è stato proposto che le persone con DSA hanno difficoltà a rappresentarsi gli stati mentali proprio e altrui, come desideri e credenze, e per questo non sarebbero in grado di comprendere e prevedere i comportamenti altrui. Nel modello del deficit della Teoria della Mente, l'essenza della cognizione sociale consisterebbe dunque nella capacità di riflettere consapevolmente su diversi stati della mente, definendo così la cognizione sociale una meta-cognizione sociale. Baron-Cohen (2009) ha poi proposto una successiva teoria dell'empatia-sistematizzazione (E-S), in cui le difficoltà sociali e di comunicazione verrebbero spiegate con riferimento a deficit di empatia, mentre le aree di forza alla capacità di analizzare e costruire sistemi rivelando regolarità e norme strutturali (“sistemizzare”). Infine, lo stesso autore ha anche proposto la teoria del «cervello maschile estremo», che considera un diverso profilo cognitivo e giustificerebbe la maggior frequenza dei disturbi dello spettro autistico nel genere maschile (Baron-Cohen, 2003).

Diverse evidenze oggi sono in sostegno dell'ipotesi di un deficit organico. Alcuni autori hanno suggerito la presenza di anomalie nell'organizzazione neurale e di connettività durante lo sviluppo cerebrale. Un aumento della sostanza bianca potrebbe essere all'origine delle dimensioni cerebrali anomale frequentemente osservate nei bambini con DSA (Courchesne et al., 2003; Dawson et al., 2007). Courchesne e Pierce (2005) hanno proposto la tesi di una eccedenza di neuroni all'interno delle cortecce frontali e temporali, che produrrebbero uno squilibrio tra un aumento di connettività a livello locale, all'interno di aree cerebrali, e una diminuzione della connettività tra aree cerebrali distanti. Uno squilibrio tra connettività a breve distanza e lunga distanza altererebbe il trattamento e l'integrazione di informazioni tra regioni del cervello (Brock et al., 2002; Minshew e Williams, 2007). Inoltre, lo spessore

cerebrale del lobo parietale superiore, nelle corteccie temporali e frontali sembrerebbe essere particolarmente ridotto negli adolescenti con autismo (Hadjikhani et al., 2006), aree ritenute essere coinvolte nella cognizione sociale, nel riconoscimento dei volti, e includenti quelle che caratterizzano il MS (si veda, Rizzolatti e Sinigaglia, 2010).

Come abbiamo introdotto nel precedente paragrafo, l'esistenza di un MS, un meccanismo neurale capace di appaiare informazioni visuo-motorie, è stato proposto come meccanismo alla base della capacità di comprendere in termini esperienziali, diretti e automatici il comportamento delle altre persone. E' stato dunque suggerito che importanti aspetti della cognizione sociale, quali la capacità di prevedere e comprendere gli scopi e le intenzioni motorie delle azioni altrui, sia una capacità intrinsecamente incarnata nell'organizzazione del sistema motorio corticale. Questa capacità è stata definita come Cognizione Motoria (si veda, Gallese et al., 2009; Gallese et al., 2012). Una conseguenza di questa ipotesi è che la comprensione dell'azione è strettamente correlata allo sviluppo funzionale e all'organizzazione del sistema motorio: dominio che potrebbe essere compromesso nelle persone con DSA, per le quali la teorizzazione degli stati mentali degli altri, sarebbe piuttosto "la strategia compensatoria disponibile", in assenza di più elementari e fondamentali abilità che consentono una comprensione diretta ed esperienziale del mondo sociale.

Questo modello si è delineato in opposizione a ciò che era stato proposto dai sostenitori del cognitivismo classico e che sembra, inoltre, trovare conferma rispetto alle peculiarità del profilo motorio di queste persone. Infatti, se inizialmente la presenza pervasiva di deficit motori nelle persone con DSA è stata considerata periferica alla sindrome autistica, successivamente è stato proposto che le difficoltà motorie potrebbero addirittura avere un ruolo determinante nella definizione comportamentale di uno specifico fenotipo in questo disturbo (Leary e Hill, 1996; Mostofsky et al., 2006).

1.2.2. Implicazioni del Meccanismo Specchio nel DSA

Una delle caratteristiche salienti del profilo nel DSA è il deficit sociale (APA-2000): una problematicità a cui può essere ricondotta la difficoltà nel comprendere le intenzioni dei comportamenti altrui.

Nel macaco sono stati descritti dei neuroni parietali e pre-motori che codificano uno specifico atto motorio (ad esempio, afferrare), ma che mostrano una attivazione molto diversa quando questo atto motorio è parte di azioni che hanno scopi differenti: ad esempio, afferrare per mangiare o afferrare per piazzare (Fogassi et al., 2005). Molti di questi neuroni hanno proprietà Specchio e sparano selettivamente all'osservazione dell'atto motorio iniziale dell'azione di cui essi fanno parte. In conseguenza di questa proprietà, si attiverebbe una specifica "catena" d'azione, e questo meccanismo permetterebbe all'osservatore di avere una copia interna di tutta l'azione prima della sua esecuzione, consentendo di comprendere direttamente l'intenzione dell'agente. Mediante l'uso di registrazioni elettromiografiche, è stato dimostrato che una simile organizzazione a "catena" esiste nei bambini a Sviluppo Tipico (ST) di età scolare, mentre è ridotta nei bambini con DSA (Cattaneo et al., 2008). In relazione a questo deficit funzionale è stato proposto che i bambini con DSA ad alto funzionamento possano capire le intenzioni degli altri a livello cognitivo, ma non in senso motorio, quando cioè gli unici elementi disponibili sono relativi alle caratteristiche motorie dell'azione osservata.

Quando si osserva un atto motorio fatto da un altro individuo (ad esempio, afferrare una tazza), si estraggono due tipi di informazioni, in relazione a come l'atto motorio viene eseguito e al suo contesto: lo scopo (ad esempio, afferrare) e l'intenzione sottostante (ad esempio, afferrare per bere). Nello studio di Boria et al. (2009) sono stati realizzati due esperimenti in bambini di età scolare. Nel primo, ad un gruppo bambini con DSA ad alto funzionamento e a ST sono state presentate delle immagini che mostravano una interazione tra una mano e un oggetto, e al bambino era richiesto di indicare "che cosa" la persona stesse facendo e "perché". In metà delle immagini della condizione "perché" la presa era congruente con la funzione dell'oggetto ("per utilizzare"), nell'altra metà, corrispondeva alla presa in genere utilizzata per spostare l'oggetto ("per spostare"). I risultati hanno mostrato che i bambini con DSA non hanno difficoltà nel riportare gli scopi di singoli atti motori ("che cosa"). Al contrario, sono stati registrati diversi errori nel compito del "perché", e tali errori hanno riguardato, in specifico, le prove "per spostare".

Nel secondo esperimento gli stessi due gruppi di bambini hanno osservato delle immagini che mostravano una “presa di mano” in un contesto congruente con l'utilizzo dell'oggetto: che suggeriva l'utilizzo dell'oggetto, oppure, la sua collocazione in un contenitore. I bambini con DSA hanno eseguito la prova correttamente come i bambini a ST: indicando adeguatamente l'intenzione dell'agente. In conclusione, questi dati mostrano che la comprensione delle intenzioni motorie, in bambini di età scolare, può avvenire in due modi: facendo affidamento ad informazioni motorie derivanti dalla interazione mano-oggetto, oppure, semantiche, ossia, utilizzando le informazioni derivanti dall'uso canonico dell'oggetto. I bambini con DSA non mostrano difficoltà nel secondo tipo di comprensione, mentre hanno difficoltà a capire le intenzioni degli altri, quando devono fare affidamento esclusivamente su segnali motori.

Il coinvolgimento del MS nel DSA è poi stato ipotizzato rispetto ad altri ambiti essenziali per la nostra vita sociale: come la competenza emotiva, l'imitazione e il linguaggio.

Per quanto riguarda la competenza emotiva, diversi studiosi hanno indagato la capacità delle persone con DSA a esprimere, comprendere, regolare, e condividere emozioni. In relazione a questo ambito, le evidenze empiriche risultano però essere controverse. In alcuni studi è stato riportato che le persone con DSA hanno difficoltà nel riconoscere le espressioni facciali delle emozioni (Celani et al., 1999; Ashwin et al., 2006), invece, in altri studi è stato dimostrato che la capacità di riconoscere le emozioni di base rimane intatta (Grosman et al., 2000; Castelli et al.; 2005). Adolphs (et al., 2001) ha dimostrato che gli individui adulti con DSA sono in grado di riconoscere semplici emozioni, ma che tale competenza risulta essere gravemente compromessa quando viene richiesto di recuperare informazioni sociali derivabili da segnali del viso: per esempio, giudicare l'affidabilità e l'accessibilità di una persona guardandone il relativo volto. Per questo, alla luce delle numerose e contrastanti evidenze, sembra più plausibile che il deficit di riconoscimento delle emozioni, riportato per le persone con DSA, possa riguardare emozioni più complesse, piuttosto che quelle di base (si veda Golan et al., 2006). In generale, vari studi di neuro-immagine hanno sostenuto una difficoltà di elaborazione socio-emotiva, riportando attivazioni atipiche durante la valutazione di compiti sociali nel giro fusiforme ed una minore attività dell'amigdala (Baron-Cohen et al., 1999; Jou et al., 2011). Ramachandran e Oberman (2006) hanno proposto che queste difficoltà possano essere dovute ad alterazioni dei circuiti neurali implicati in questi processi: ad esempio, connessioni anomale tra aree sensoriali e l'amigdala. La tesi per la quale queste anomalie sono basate su connettività alterata, in reti neurali "condivise", ossia, coinvolte nella consapevolezza emozionale di sé e degli altri, ha ottenuto conferme empiriche dallo studio di

Ebisch et al. (2011). Questi autori hanno indagato in adulti con DSA ad alto funzionamento le proprietà di connettività funzionale dell'insula, tramite risonanza magnetica funzionale. I risultati hanno mostrato una ridotta connettività funzionale nel gruppo DSA, rispetto al gruppo a ST: tra l'insula anteriore e posteriore e specifiche regioni cerebrali coinvolte nell'elaborazione emozionale e sensoriale. Per questo è stato suggerito che le anomalie funzionali in una rete coinvolta nella consapevolezza emotiva e interocettiva potrebbero essere esplicative delle esperienze emotive alterate nell'ASD.

Diversi studi hanno poi documentato una grave compromissione nelle abilità di imitazione nel DSA (si veda, Rogers et al., 1996). Particolarmente compromessa è la capacità di imitare elementi simbolici come pantomime, gesti privi di scopo, azioni non convenzionali con oggetti comuni (Leary, 1996; Smith et al., 1994; Rogers, 1996; Rogers et al., 2003). Diversi autori hanno suggerito che le difficoltà di imitazione potrebbero essere il risultato di una alterata rappresentazione del sé e degli altri: una difficoltà ad individuare somiglianze tra sé e i movimenti corporei altrui (Rogers e Pennington., 1991; Meltzoff, Gopnick 1993; Hobson et al., 2006). E' poi importante distinguere diversi tipi di imitazione sulla base del livello di coscienza implicata nel processo: distinzione che vede contrapposta, ad un estremo, il "contagio", all'altro, l'imitazione volontaria di comportamenti complessi. La "simulazione motoria", propria del MS, che ha luogo durante l'osservazione di un'azione è stata interpretata come processo implicito di imitazione (Gallese et al., 2012). Diversi studi hanno suggerito l'esistenza di un deficit in questo meccanismo nelle persone con DSA (Nishitani et al. 2004; Oberman et al., 2005; Dapretto et al., 2006; Williams et al. 2006; Bernier et al. 2007; Cossu et al 2012). Allo stesso tempo, l'evidenza di un processo di simulazione alterato nel DSA è stata contestata in diversi studi che hanno mostrato un MS relativamente risparmiato in talune condizioni: quando l'azione osservata viene eseguita da un agente familiare (Oberman et al., 2008), in compiti di apertura e chiusura di una mano e di un arto robotico (Bird et al., 2007), quando l'azione è diretta ad uno scopo (Hamilton et al., 2007; Martineau et al., 2008). In relazione a quest'ultimo punto, occorre ricordare che la peculiarità del MS umano è quella di rispondere, sia alle azioni dirette ad uno scopo, sia a semplici movimenti (Fadiga et al., 1995; Streltsova et al., 2010), ed è stato proposto che questa particolarità potrebbe essere alla base delle abilità umane di imitazione (Rizzolatti, 2005). Studi futuri focalizzati su questi temi potrebbero consentire di capire quanto e a che livello un deficit di simulazione motoria potrebbe essere generalizzabile a tutta la popolazione con DSA. Le persone con gravi deficit potrebbero mostrare un danno profondo di simulazione motoria ad un livello base, mentre per

gli individui ad alto funzionamento con DSA potrebbe essere più appropriato indagare aspetti più sottili del MS coinvolti nella comprensione delle azioni (Gallese et al., 2012).

Una altra caratteristica saliente nel DSA sono i deficit linguistici, e nello specifico, i deficit pragmatici che rappresentano la caratteristica più pervasiva di questo disturbo (Bishop, 2000). È stato ipotizzato che una serie di strutture neurali coinvolte nel meccanismo di rispecchiamento visuo-motorio, insieme con un appropriato meccanismo di apprendimento, potrebbero essere alla base dell'evoluzione culturale del linguaggio, in tutta la sua ricchezza (Rizzolatti, Arbib, 1998; Gallese e Lakoff, 2005; Glenberg e Gallese, 2012). Quello che si sa oggi è che in età molto precoce i bambini con DSA hanno un profilo peculiare nelle abilità di comunicazione, con uno scarso repertorio di gesti (con una inferiore percentuale di gesti deittici e un maggior utilizzo di quelli più 'primitivi') e, in generale, una percentuale più bassa di atti comunicativi (Shumway, Wethery, 2009). E' stato poi dimostrato che vi è una significativa co-occorrenza di deficit verbali e di deficit neuro-motori nei bambini con DSA, così come nei bambini con un Disturbo Specifico del Linguaggio (Noterdaeme, 2002). Per questo, è stato ipotizzato che nelle persone con DSA una disfunzione negli stessi circuiti coinvolti nella comprensione dell'azione potrebbero determinare simultaneamente menomazioni nell'uso appropriato del linguaggio, e in generale, nella comunicazione intenzionale (Gallese et al. 2012).

L'ipotesi della cognizione motoria fornisce un nuovo approccio allo studio della cognizione sociale nel DSA. Nella consapevolezza che la complessità clinica di questo disturbo multi-faccettato non possa essere ridotto unicamente ad un deficit di cognizione motoria, e dunque ad un malfunzionamento del MS, Gallese et al. (2009, 2012) propongono che molti dei deficit sociali manifestati nel DSA possano essere attribuiti ad una compromissione nell'intrinseca organizzazione del sistema motorio di queste persone.

1.3 L'EEG ad alta densità

1.3.1 Dai primi sistemi EEG ai sistemi ad Alta Densità.

Nella storia dell'Elettroencefalografia (EEG), Richard Caton (1842-1926) viene annoverato come uno dei primi ideatori di questa tecnica (1875, British Medical Journal). Nella seconda metà dell'800, in studi condotti su gatti, scimmie, conigli vennero descritti, per la prima volta, alcuni fenomeni di variazione di attività elettrica, in relazione a sonno, veglia, alla anestesia, alla morte, così come alcune attività evocate da stimoli, quale la presentazione di cibo.

Tra i pionieri, va poi ricordato Hans Berger (1873-1941). Berger può essere considerato uno dei padri dell'elettroencefalografia umana. La sua strumentazione consisteva in un sistema scrivente che gli dava la possibilità di conservare traccia di quanto stava registrando; gli elettrodi erano aghi di acciaio, collocati a livello sotto-cutaneo. I primi lavori di Berger (1929), in cui furono descritte delle oscillazioni a 10 Hz, che poi verranno successivamente definite onde alfa, suscitarono molti scetticismi (De Feo, Mecarelli 2001). Tuttavia, sia i progressi tecnici, sia le evidenze fornite da diversi scienziati, quali E.D. Adrian, H.H. Jasper, contribuiranno a superare le iniziali perplessità sulla reale origine cerebrale dei segnali registrati con l'EEG. Inoltre, proprio le evidenze relative ai pazienti epilettici (Jasper e Kershman, 1949; Gastaut, 1954) contribuiranno ad aumentare la credibilità che questa tecnica andrà ad acquisire negli anni.

Negli anni 70 (De Feo, Mecarelli 2001) la diffusione su scala mondiale dei computer ha coinvolto anche il mondo dell'EEG, provocando una profonda rivoluzione tecnologica: questa rivoluzione ha rappresentato il passaggio da un elettroencefalografo tradizionale – in cui i segnali erano completamente gestiti in modo analogico- (sistemi tipicamente costituiti da trasduttori elettromeccanici con penne ad inchiostro), ad un elettroencefalografo digitale (in cui l'EEG viene espresso in campioni, in forma numerica).

Un nuovo capitolo, nella storia di questa tecnica, si è manifestato recentemente con l'introduzione dei nuovi sistemi EEG ad alta densità (< 60 elettrodi). I sistemi ad alta densità hanno introdotto ulteriori e nuovi progressi, rendendo questa tecnica non solo un importante strumento capace di restituire precise informazioni “temporali”, ma rendendo l'EEG un potente metodo di neuro-immagine (Michel et al., 2004).

Ad oggi la tecnologia EEG è in continua evoluzione: si pensi all'introduzione dei nuovi sistemi di acquisizione EEG wireless (Dias et al. 2012). Tuttavia, proprio questi nuovi sistemi e le loro relative imperfezioni, sembrano ribadire la caratteristica peculiare e il tradizionale punto di forza dell'EEG: la precisione temporale.

L'evoluzione tecnologica deve però essere necessariamente letta in parallelo all'evoluzione delle tecniche di analisi del segnale EEG. Purtroppo, nella "storia" dell'analisi del segnale EEG le relative potenzialità non sempre sono state sfruttate e comprese a pieno (Michel, Murray 2012). Innumerevoli volte assunzioni erranee sui "generatori" dei potenziali di scalpo hanno condotto ad interpretazioni fuorvianti e, di conseguenza, a rivendicare funzioni cerebrali che successivamente sono state smentite dall'impiego di altre tecniche (registrazioni EEG intracraniche, studi di lesione, altri metodi di neuro-immagine), screditando pesantemente questa tecnica.

Di seguito illustreremo i progressi realizzati negli ultimi anni relativamente all'analisi del segnale EEG, progressi che hanno contribuito a rilanciare molti entusiasmi nei confronti di questa tecnica.

1.3.2 Nuovi traguardi: la localizzazione delle sorgenti cerebrali

Tradizionalmente, esistono due tipologie di "fenomeni" che vengono indagati nell'EEG: i potenziali evocati e l'analisi dei ritmi dell'attività spontanea. Relativamente ai potenziali evocati, si ritiene che esistano alcune tipologie di eventi, in particolare stimoli sensoriali, capaci di indurre dei cambiamenti –serrati– nell'attività di popolazioni di neuroni (Pfurthscheller et al., 1999). Questo tipo di attività EEG è comunemente chiamato Potenziale Evento Correlato (Event Related Potential: ERP). La tecnica matematica che viene comunemente utilizzata per individuare gli ERP è la media tra le prove. L'assunto di base è che l'attività evocata ha più o meno un ritardo fisso dalla comparsa dello stimolo e i Potenziali Evocati possono essere considerati come il risultato di una riorganizzazione della fase di segnali continui EEG.

Altri eventi sono in grado di bloccare o desincronizzare l'attività in alcuni ritmi EEG: questi tipi di cambiamenti sono temporalmente serrati rispetto agli eventi, ma non rispetto alla fase del segnale, e quindi non possono essere ricavati da una semplice media, ma necessitano di

specifiche analisi di frequenze (Pfurtscheller et al., 1999). Questi eventi possono consistere, in termini generali, in una diminuzione o aumento di potenza in bande di frequenza specifiche. Nel primo caso si parla di Desincronizzazioni Evento-Correlate (Event Related Desynchronization: ERD (Pfurtscheller, 1977; Pfurtscheller e Aranibar, 1977)), nel secondo, di Sincronizzazioni Evento-Correlate (Event Related Synchronization: ERS, Pfurtscheller, 1992).

Per Pfurtscheller et al. (1999), se gli ERP tradizionali possono essere considerati come una serie di risposte transitorie post-sinaptiche, principalmente di neuroni piramidali attivati da uno specifico stimolo, i fenomeni ERD /ERS possono essere visti come generati dalla variazione di uno o più parametri di controllo delle oscillazioni di reti neuronali.

Tuttavia, se negli ultimi 20 anni l'EEG ha ottenuto una rinnovata crescita di interesse è grazie soprattutto all'introduzione e all'applicazione delle "analisi delle sorgenti" (Coben, Evans 2011). Le analisi delle sorgenti, sono sofisticate pratiche di analisi che hanno reso possibile una "dislocazione" dal piano dei sensori (sullo scalpo), allo spazio delle sorgenti (cerebrali): compensando così la scarsa risoluzione spaziale dell'EEG. Questo ha consentito di affiancare questa nuova modalità di neuro-immagine alle più sofisticate e consolidate tecniche, come la Magnetoencefalografia (MEG, Magnetoencephalography), la Risonanza Magnetica Funzionale (fMRI, Functional Magnetic Resonance Imaging), la Tomografia ad Emissione di Positroni (PET, Positron Emission Tomography), la Spettroscopia nel vicino infrarosso (NIRS, Near Infrared Spectroscopy), (Michel, Murray 2012). I progressi nell'analisi del segnale hanno consentito dunque all'EEG di ottenere lo status di metodo capace di fornire informazioni spazio-temporali sulle funzioni cerebrali. Come è stato introdotto, frequentemente le possibilità di questa tecnica, invece, sono state ampiamente sotto-stimate. Tutt'oggi, molti studi cognitivi e clinici condotti sugli ERP usano l'EEG ancora nella sua modalità tradizionale: mediante analisi di ampiezze e latenze ad elettrodi pre-fissati. Una modalità di utilizzo dell'EEG questa non solo rischiosa, poiché spesso conduce a risultati fuorvianti, ma che ignora ampiamente gli aspetti spaziali del segnale. Invece, proprio perché l'EEG misura il "campo" del potenziale elettrico sulla superficie dello scalpo, nello stesso modo in cui la MEG misura il "campo" magnetico, campionando e analizzando con correttezza il campo elettrico, questa tecnica può fornire informazioni affidabili circa l'attività neuronale nel cervello, e le dinamiche temporali della sua attività, a livello di scala temporale di millisecondi.

Le neuro immagini nell'EEG non sono solo state utilizzate a fini di ricerca nelle neuroscienze cognitive, ma anche in importanti applicazioni cliniche quali la neurologia, la psichiatria e la farmacologia. In neurologia, lo studio degli ERP motori o sensoriali è di crescente interesse, ma l'applicazione clinica principale e di eccellenza è la localizzazione dei focolai epilettici (Brodbeck et al., 2011).

Michel (et al. 2004) ha descritto in rassegna una panoramica degli algoritmi disponibili per la localizzazione delle sorgenti. Negli ultimi due decenni differenti soluzioni sono state formulate e implementate in differenti algoritmi: dalla stima del dipolo singolo, al calcolo della distribuzioni di densità di corrente tridimensionale (3D). Un'importante considerazione che deve essere poi fatta è che la maggior parte degli studi di localizzazione si sono indirizzati all'analisi degli ERP. Infatti, l'analisi delle sorgenti, relativamente ai ritmi, introduce una serie di ulteriori complicazioni nella risoluzione del "problema inverso" (si veda, Brunet et al., 2011). La modalità per localizzare le "potenziali" fonti cerebrali è attraverso la soluzione del cosiddetto "problema inverso" (si veda, Michel et al., 2004): un problema che può essere risolto solo introducendo assunzioni a priori sulla generazione dei segnali EEG e MEG. Ne consegue che più precise sono le relative assunzioni (il così detto: "problema in avanti"), più affidabili sono le stime delle sorgenti. Ne consegue anche che un aspetto fondamentale nella "localizzazione delle sorgenti" è la definizione di assunzioni a priori e che le fasi di pre-elaborazione dei dati acquisiscono un significato cruciale (Michel et al., 2004). Una questione riguarda il numero di elettrodi sufficiente per realizzare una localizzazione affidabile. In linea di principio, la realizzazione di un campionamento corretto delle frequenze spaziali dei campi elettrici del cuoio capelluto dovrebbe portare ad una risoluzione più accurata. In senso indicativo, un numero di almeno 60 elettrodi, equamente distribuiti sullo scalpo, sono necessari per la realizzazione di una corretta localizzazione (per questo motivo, studi di localizzazione della sorgente con sistemi EEG di acquisizione convenzionali (per esempio, sistemi 10-20), dovrebbero essere considerati con estrema cautela). Un altro importante aspetto riguarda la scelta dell'elettrodo di referenza, questione ampiamente dibattuta in letteratura (Desmedt et al., 1990; Pascual-Marqui and Lehmann, 1993; Gencer et al., 1996; Junghöfer et al., 1999; Tomberg et al., 1990). Mentre il problema della referenza influenza ampiamente l'analisi delle forme di onda classica, è totalmente irrilevante per l'analisi della topografia delle mappe e per la localizzazione delle sorgenti (nella misura in cui, la referenza è correttamente inclusa nel modello). Un'altra questione pratica riguarda la presenza di artefatti a livello di certi elettrodi: in linea di principio, gli elettrodi contaminati da artefatti,

dovrebbero essere esclusi dal calcolo della localizzazione delle sorgenti. Gli elettrodi “contaminati” dovrebbero essere interpolati, assicurando così lo stesso numero di campioni, per ogni elettrodo (Michel et al., 2004).

Sfortunatamente la modalità con cui il segnale è generato è sconosciuta e ogni approccio utilizza diversi vincoli matematici, di biofisica, di statistica, anatomici o funzionali. La ragione per cui vengono sviluppati continuamente nuovi algoritmi è il riflesso delle evoluzioni relative alle conoscenze su come i segnali sono generati, progresso che in futuro potrà contribuire a rendere questa metodologia ancora più precisa.

1.3.3 L'EEG nello studio del Meccanismo Specchio

1.3.3.1 La panoramica attuale

Numerosi studi hanno impiegato tecniche elettrofisiologiche per esplorare il MS nell'uomo, documentandone così evidenze indirette (Rizzolatti et al., 2004).

Nella storia dell'elettroencefalografia è possibile rinvenire evidenze sperimentali di una connessione tra osservazione dell'azione e cambiamenti nell'EEG molto indietro nel tempo. Negli anni cinquanta, Gastaut e Bert. (1954) illustrarono l'esistenza di un ritmo a 10-13 Hz che, in soggetti normali adulti, de-sincronizzava alla visione di filmati con persone in movimento. Tuttavia, l'ipotesi esplicita di una connessione con un particolare ritmo elettroencefalografico (il ritmo mu/alfa sensori-motorio) e il MS è stata suggerita per la prima volta da Altschuler et al. (1997). Altschuler già alla fine degli anni 90' del secolo scorso indicava il ritmo alfa sensori-motorio come espressione indiretta del MS: per le aree in cui è canonicamente registrato e per la relativa desincronizzazione, sia durante l'esecuzione, sia durante l'osservazione di un movimento (proprietà del MS).

L'utilizzazione dell'elettroencefalogramma nell'indagine del MS è avvenuta principalmente attraverso lo studio delle “oscillazioni spontanee”. In particolare, due ritmi, registrati in siti centrali, sono stati ampiamente investigati: il ritmo mu/alfa sensori-motorio (8-14 Hz) e il ritmo beta (14-30 Hz). Nell'EEG è stato soprattutto il ritmo alfa sensori-motorio a destare maggiore attenzione e, allo stesso tempo, ad innescare talvolta dibattiti controversi. Il ritmo

alfa sensori-motorio rifletterebbe una modulazione “a valle” di neuroni motori (cellule che si trovano nella corteccia motoria primaria), tra cui i Neuroni Specchio (Muthukumaraswamy et al., 2004 a, b; Pineda, 2005). La soppressione del ritmo sensori-motorio, da un punto di vista elettroencefalografico, viene considerata una desincronizzazione dell'EEG connessa ad un evento (ERD) causata da un aumento di attività neurale (Kuhlman, 1978). Negli adulti, molteplici studi EEG hanno documentato evidenze, illustrandone diverse proprietà e sfumature (Babiloni et al., 2002; Muthukumaraswamy et al., 2004a; Muthukumaraswamy et al., 2004b; Perry e Bentin, 2009; Streltsova et al., 2010; Umiltà et al., 2012). In un nostro recente lavoro (Streltsova et al., 2010), l'alfa sensori-motorio è stato indagato durante l'osservazione di un atto motorio (“afferrare”), di un atto motorio in interazione con un altro individuo (“afferrare dal palmo di un'altra persona”), di gesti con significato simbolico (“ok”, “ciao”) e di movimenti della mano privi di significato. In questo studio è stato dimostrato che queste diverse condizioni sono in grado di elicitare un pattern temporale di attivazione specifico tanto più rapido e quanto più chiaro è lo scopo dell'atto motorio/gesto osservato. Recentemente, inoltre, abbiamo dimostrato che anche l'osservazione della conseguenza di un gesto motorio (artistico) si rivela capace di indurre una attivazione sensori-motoria (Umiltà et al., 2012).

Infine, ricordiamo che le modulazioni del ritmo alfa sensori-motorio sono state inoltre indagate sia rispetto a stimoli “con contenuto sociale” più complesso, come scene di interazione tra persone (Oberman et al., 2007), sia rispetto a patologie in cui il deficit sociale è sicuramente uno dei tratti distintivi, quali il DSA (Oberman et al., 2005; Oberman et al., 2007; Bernier et al., 2007).

In questa prima parte, abbiamo descritto alcuni dei lavori più importanti nell'indagine del MS con riferimento all'attività EEG spontanea. Tuttavia, anche per i Potenziali Evocati, nello studio del MS è possibile rinvenire diversi studi, se pur di numerosità inferiore, rispetto a quelli che hanno fatto riferimento all'EEG spontaneo. In uno di questi (Ortigue et al., 2010), è stato investigato il circuito parieto-frontale con proprietà Specchio, di cui è stato documentato un ampio coinvolgimento nella comprensione dell'intenzioni delle azioni (per una rassegna, si veda: Rizzolatti, Sinigaglia 2010, Gallese, Sinigaglia 2011). Nello studio ERP con localizzazione delle sorgenti di Ortigue et al. (2010) è stato così possibile documentare la dimensione temporale del circuito parieto-frontale. Durante l'osservazione di un'azione inserita in un contesto che ne suggeriva la possibile intenzione sottesa (ad esempio, "afferrare

per mangiare") e durante l'osservazione di un'azione priva di contesto. In questo studio sono state descritte complesse dinamiche di attivazione tra emisfero destro e sinistro.

La maggior parte degli studi condotti sugli ERP hanno indagato componenti specifici e "classicamente" ritenuti essere implicati nell'elaborazione linguistica: ipotizzando che i meccanismi coinvolti nella percezione dell'azione siano simili a quelli associati all'elaborazione che ha luogo nel corso della comprensione semantica linguistica (Reid e Striano, 2008; Proverbio, Riva, 2009; Shibata et al., 2009). Ad esempio, Gunter e Bach (2004), durante l'osservazione di posture della mano con un significato simbolico (ad esempio, il segno "Vittoria", o "OK"), rispetto a posture della mano senza un esplicito significato, hanno riportato lo sviluppo di una risposta frontale (N300) e una risposta centro-posteriore diffusa (N400). Per gli autori, l'N300 rifletterebbe presumibilmente un processo aspecifico di elaborazione per le immagini, mentre l'N400 rifletterebbe un processamento semantico. La rappresentazione semantica dei concetti, espressa da una postura priva di significato, avrebbe proprietà simili a quella delle parole astratte.

Infine, occorre puntualizzare che la maggior parte degli studi che hanno studiato gli ERP hanno indirizzato il loro target di indagine su partecipanti adulti, e che soltanto negli ultimi anni sono stati riportati dati relativi alla localizzazione delle sorgenti (Proverbio et al., 2009; 2010, Ortigue et al., 2010).

1.3.3.2 L'EEG e il Meccanismo Specchio in età evolutiva

In molti studi condotti su bambini di pochi mesi con l'obiettivo di definire schemi condivisi tra osservazione e esecuzione dell'azione, l'EEG è stato utilizzato come tecnica di indagine (Nystrom 2008; Van Elk et al, 2008; Soutghate et al, 2009; Nystrom et al 2010; Soutghate et al, 2010; Reid et al, 2011). Il tentativo di trovare questi modelli sovrapposti è stato effettuato principalmente attraverso lo studio del ritmo mu/alfa sensori-motorio (si veda Pineda, 2005). E' stato suggerito che la soppressione di un ritmo EEG a 6-9 Hz, a livello di siti centrali, rifletterebe la reattività del MS nei bambini di pochi mesi (Nystrom 2008; Van Elk et al, 2008; Nystrom et al 2010; Reid et al, 2011). In uno di questi studi, la soppressione sensori-motoria è stata studiata in un gruppo di bambini di 9 mesi (Soutghate et al., 2010). Questo studio si ispira a una ricerca pioniera nella dimostrazione delle proprietà dei Neuroni

Specchio: il lavoro di Umiltà et al. (2001). Uno studio in cui è stato dimostrato che metà dei neuroni con proprietà Specchio nella corteccia premotoria della scimmia rispondono all'osservazione di una azione anche quando essa non è pienamente visibile, ed il relativo scopo può solamente essere inferito. Nello studio di Soutghate et al. (2010) è stato riportato che anche i bambini di 9 mesi mostrano una reattività EEG sensori-motoria quando osservano un atto motorio parzialmente oscurato in cui l'interazione tra la mano e l'oggetto da afferrare è nascosta da uno schermo.

Altri studiosi, misurando la soppressione del ritmo alfa sensori-motorio, hanno documentato l'esistenza di un meccanismo che appaia l'osservazione/esecuzione dell'azione anche in bambini di età scolare (Lepage e Theoret, 2006). In questo studio è stato riportato che l'osservazione di una azione diretta ad uno scopo, rispetto ad una mano distesa (immobile), induce una soppressione del ritmo centrale più forte nel primo caso, rispetto al secondo.

Nella sezione precedente, abbiamo anticipato che molti studi sul ritmo alfa sensori-motorio si sono indirizzati al DSA: molte di queste ricerche si sono focalizzate su campioni di bambini di età scolare. Il lavoro EEG pioniere è stato però quello di Oberman et al. (2005). In questo studio, gli autori hanno evidenziato che nei soggetti con DSA vi è una desincronizzazione significativa del ritmo alfa sensori-motorio durante l'esecuzione di un movimento (apertura e chiusura della mano), ma non durante l'osservazione della stesso. Tuttavia, in tale campione sono stati inclusi, sia bambini che adulti. In seguito, Oberman (et al., 2008), focalizzandosi su un campione di bambini di età scolare, ha poi esplorato l'influenza della "familiarità" sul ritmo alfa sensori-motorio, ed è emerso che nel DSA la soppressione è modulata dal grado di familiarità dell'attore che esegue il movimento. Recentemente, in seguito alla incidente popolarità della così detta "broken mirror hypothesis" (Ramachandran, Oberman, 2006), sempre mediante l'impiego dell'EEG, diversi autori hanno avanzato argomenti in opposizione ad essa, portando nuove e contraddittorie evidenze su campioni di bambini in età scolare, criticando principalmente l'eterogeneità della popolazione impiegate in questi primi studi (Raymaekers et al., 2009; Fan et al., 2010).

In sintesi, se nel DSA i risultati paiono essere talvolta contraddittori, allo stesso tempo questi studi hanno documentato la reattività del ritmo alfa sensori-motorio nei bambini a ST. Rispetto alla popolazione a ST è stato dunque illustrata una attivazione del MS, sia durante l'osservazione di semplici movimenti (per esempio, apertura e chiusura della mano), sia durante l'osservazione di un atto motorio diretto ad uno scopo (per esempio, afferrare un oggetto).

Una critica più concisa riguarda la descrizione dei circuiti parieto-frontali Specchio nei bambini. Infatti, pochi studi hanno indagato il MS impiegando la tecnica di fMRI, di conseguenza molto poco si sa circa il funzionamento dei circuiti parieto-frontali Specchio nei bambini. In uno di questi studi è stato indagato il MS in bambini a ST e DSA, durante l'imitazione/osservazione di emozioni (Dapretto et al, 2006). Gli autori hanno riferito che, durante l'imitazione di espressioni emozionali del volto i bambini a ST attivano aree analoghe a quelle precedentemente riportate negli adulti.

La panoramica introduttiva qui offerta si è posta come finalità di illustrare sinteticamente quello che noi oggi sappiamo sul MS in età evolutiva. Sono state delineate alcune incongruenze che ribadiscono l'esigenza di ulteriori studi in grado di rispondere in modo più dettagliato alle questioni che restano da chiarire. Il taglio tecnico rispetto all'EEG deriva dall'importanza che questa tecnica oggi riveste nello studio del MS nei soggetti in età evolutiva.

Di seguito, presenteremo due studi che sono stati realizzati con l'EEG ad alta densità in bambini di età scolare. Per questi esperimenti abbiamo utilizzato il paradigma originale di Umiltà et al. (2001). Questo paradigma è stato precedentemente impiegato da Southgate et al. (2010) in un campione di bambini di nove mesi mediante l'EEG e studiando l'alfa sensori-motorio.

In particolare, l'obiettivo principale del primo studio è stato quello di indagare nei bambini con DSA e a ST l'intensità della soppressione dell'alfa sensori-motorio durante l'osservazione di atti motori di afferramento, eseguiti in due diverse Condizioni sperimentali: una mano afferra un oggetto: (Condizione "Interamente visibile"), una mano afferra un oggetto, ma l'interazione tra la mano e l'oggetto viene nascosta da uno schermo nero (Condizione "Oscurata"). Inoltre, è stato esplorato il ruolo della "familiarità/semantica" degli oggetti afferrabili osservati nella soppressione dell'alfa sensori-motorio. Infine, per estendere le nostre conoscenze sulle proprietà del ritmo alfa sensori-motorio, le modulazioni di questo ritmo sono state investigate mediante una analisi di "soppressione per ripetizione", un'analisi già utilizzata in paradigmi di fMRI per studiare il MS, ma innovativa per l'EEG.

Nel secondo studio che aveva la finalità di indagare i circuiti parieto-frontali con proprietà Specchio in bambini in età scolare, abbiamo registrato i Potenziali Evocati durante l'osservazione dei due diversi tipi di atti motori sopra illustrati: la Condizione "Interamente visibile" e la Condizione "Oscurata". In questo secondo studio, le potenzialità dell'EEG ad alta densità e le tecniche di localizzazione delle sorgenti cerebrali sono state impiegate per esplorare e descrivere i pattern temporali di attivazione cerebrale durante le due diverse Condizioni sperimentali.

2. Due ricerche empiriche sul Meccanismo Specchio in età evolutiva

2.1 Studio uno: Come i bambini con Disturbo dello Spettro Autistico comprendono le nostre azioni

2.1.1 Materiali e Metodi

Il campione

Nel campione originale sono stati inclusi 11 bambini con DSA e 13 bambini a ST. Due bambini con DSA e 3 a ST sono stati esclusi dall'analisi per la presenza di eccessivi artefatti da movimento che hanno comportato l'impossibilità di ottenere un numero sufficiente di prove per ogni Condizione. Dopo l'esclusione dei cinque partecipanti, nel nostro campione finale sono stati inclusi 19 bambini: 9 con DSA e 10 a ST (DSA: età media = 11,36 DS = + / - 2,25; ST: età media = 9,6 SD = + / - 2,74). Tutti i partecipanti inclusi nello studio sono di sesso maschile; 17 destrimani, 2 partecipanti mancini (1 a ST e 1 con DSA). I partecipanti con DSA sono stati reclutati attraverso la Fondazione IRCCS Stella Maris (Calambrone, Pisa). Per valutare il funzionamento intellettuale è stato utilizzata la Scala di intelligenza WISC (Wechsler Intelligence Scale for Children III). L'ADOS (Autism Diagnostic Observation Schedule-Generic: ADOS-G, Lord et al., 2000) è stato utilizzato per confermare la diagnosi di Disturbo dello Spettro Autistico. La diagnosi di ogni bambino è stata inoltre realizzata mediante colloquio con i genitori, tramite l'ADI-R (Autism Diagnostic Interview-Revised (ADI-R, Lord et al., 1994). Sulla base dei risultati di tali valutazioni e secondo criteri stabiliti e specificati nel DSMIV-TR (APA, 2000) (età mentale, comprensione verbale e capacità di

produzione adeguati e QI superiore a 85), tutti e 9 i bambini sono stati considerati con DSA ad alto funzionamento (Tabella, 1).

Lo studio è stato approvato dal Comitato Etico locale, in linea con la Dichiarazione di Helsinki. I genitori di tutti i partecipanti hanno fornito il loro consenso informato, dopo aver ricevuto informazioni adeguate e una spiegazione esaustiva relativa alle procedure previste nello studio.

Tabella 1. Caratteristiche cliniche del campione DSA

	M	DS
Età cronologica	11,4	2,3
Wechsler QI Totale	105,4	14,2
Verbale	103,4	17,9
Non Verbale	107,4	12,8
ADOS Totale	12	3,2
Interazione	8	1,1
Comunicazione	7	2,4
ADI-R Total	31,4	13,6
Interazione	13,3	7,3
Comunicazione	12	5,1
Comp. rip./stero.	6,1	2,6

Procedura Sperimentale

Per assicurarsi che tutti i bambini comprendessero il compito, e come mezzo di sostegno ai bambini con DSA, è stata condotta una sessione di preparazione realizzata prima di iniziare le registrazioni EEG. Durante questa sessione, la procedura sperimentale è stata descritta in dettaglio, passo dopo passo, con istruzioni appropriate, presentate sullo schermo di un computer nei termini più chiari possibili, sottolineando le informazioni più importanti, ossia di prestare attenzione ai filmati, e di dare una risposta verbale alla comparsa di un personaggio Disney. I bambini sono stati istruiti di cercare di rimanere il più fermi possibile, con le mani appoggiate ai braccioli della poltroncina su cui erano seduti.

Nel paradigma sperimentale sono state previste cinque Condizioni, presentate in modo randomizzato (vedi Figura 1): (1) Osservazione di video clips che mostrano una mano che afferra un oggetto neutro; (2) Osservazione di video clips che mostrano una mano che afferra un oggetto con valore semantico (giocattoli) (Condizioni “Interamente Visibile”); (3) Osservazione di video clips che mostrano una mano che afferra un oggetto neutro, ma in cui l'interazione tra la mano e l'oggetto non è visibile; (4) Osservazione di video clips che mostrano una mano che afferra un giocattolo, ma l'interazione tra la mano e il giocattolo non è visibile (Condizioni “Oscurate”); (5) Osservazione di uno schermo nero (Condizione di Baseline). I giocattoli presentati erano: una macchinina (afferrata con una presa di precisione), il peluche di una mucca (afferrato con una prensione con tutta la mano). Gli oggetti neutri erano: una piccola sfera (afferrata con una presa di precisione), una sfera grande (afferrata con una prensione con tutta la mano).

Gli stimoli sono stati presentati con E-Prime 2.0. Tutti i video-clips (formato colore: RGB; dimensione: 480x720, formato: avi), della durata di 2 secondi, sono stati presentati a una distanza di 80 cm dal corpo del partecipante, mostrati su uno sfondo nero, a 30 fotogrammi al secondo. Per evitare artefatti da movimenti oculari, gli stimoli sono stati mostrati al centro dello schermo, ridimensionati in larghezza e in altezza del 50% della loro dimensione originale. I 4 diversi video clips presentati nella Condizione “Oscurata” sono stati realizzati utilizzando uno specifico software, con la finalità di coprire l'oggetto dopo 250 ms dalla sua comparsa. Tutte i video clips possono essere descritti da 5 epoche: da T0 a T4 (si veda Fig. 1). In T0 (0-250 ms): in entrambe le Condizioni appare l'oggetto ed è completamente visibile. In T1 (250-500ms): nella Condizione “Interamente Visibile” l'oggetto rimane visibile,

mentre, nella Condizione “Oscurata” appare un pannello che oscura l'oggetto. In T2 (500-750ms): nella Condizione “Interamente Visibile”, compare una mano che si avvicina all'oggetto (fase di raggiungimento); nella Condizione “Oscurata”, compare la mano che si avvicina al pannello e scompare dietro ad esso (fase di raggiungimento). In T3 (750-1000 ms): nella Condizione a visione completa la mano afferra l'oggetto e la loro interazione è visibile, nella Condizioni “Oscurata” la mano scompare completamente dietro il pannello nero. In T4 (1000-2000ms): nella Condizione “Interamente Visibile” la mano solleva l'oggetto, nella Condizione “Oscurata” la fase di sollevamento è completamente nascosta dal pannello e l'unica parte visibile è parte del braccio.

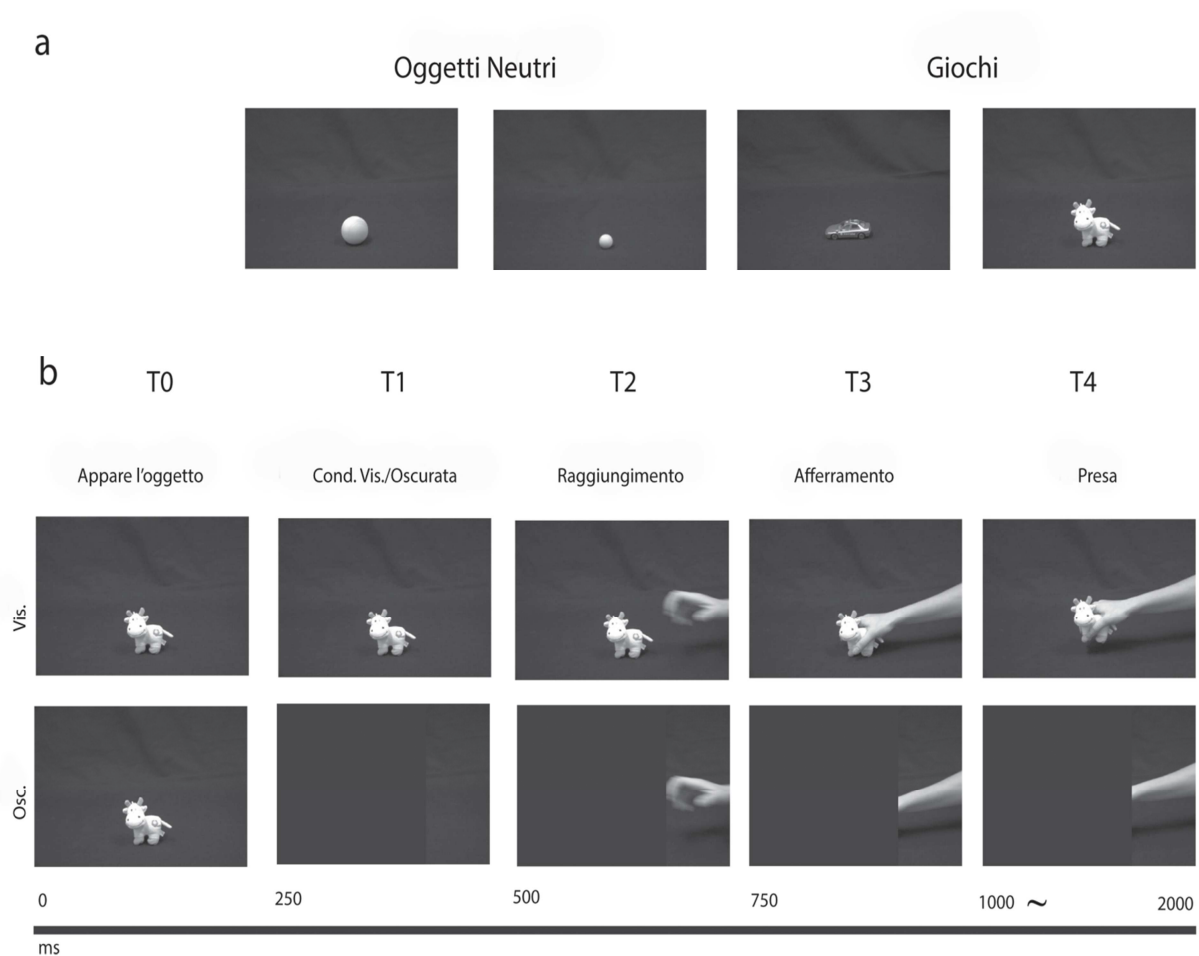


Figura 1. Stimoli. (a) Categorie di oggetti “afferrabili” presentati. (b) Rappresentazione della sequenza temporale per la Condizione “Interamente Visibile” e “Oscurata”. Nei primi 250 ms, in entrambe le Condizioni vi è la comparsa dell'oggetto. Dai 250 ai 500 ms, nella Condizione “Interamente Visibile” l'oggetto è ancora visibile, nella Condizione “Oscurata” appare uno schermo nero che nasconde l'oggetto. Da 500 a 750 ms, in entrambe le Condizioni, appare la mano (“fase di raggiungimento”). Da 750 a 1000 ms, nella Condizione “Interamente Visibile” la mano afferra l'oggetto, nella Condizione “Oscurata” la mano scompare dietro lo schermo nero (“fase di afferramento”). Da 1000 a 2000 ms, nella Condizione “Interamente Visibile” la mano trattiene l'oggetto, nella Condizione “Oscurata” c'è ancora lo schermo nero, ed è solamente visibile parte del braccio dello sperimentatore.

Tutte le prove (si veda la Figura 2) sono state caratterizzate da 4 diversi eventi. 1) all'inizio, appariva una croce di fissazione bianca, presentata al centro dello schermo, con durata randomizzata da 450 a 550 ms (+/- 50 ms). 2) In seguito, seguiva la presentazione dello stimolo sperimentale. Lo stimolo veniva presentato in un blocco ripetuto in cui lo stesso filmato era presentato e ripetuto quattro volte. La durata di ciascun blocco era di 8 secondi (2 secondi è la durata di ogni stimolo, ripetuto x 4 volte). 3) Dopo la presentazione dello stimolo, appariva un compito "attentivo", caratterizzato da 6 diversi personaggi di Walt Disney (ad esempio, Paperino, Topolino, ecc.). Questi personaggi sono stati mostrati ai bambini per 500 ms, ed è stato richiesto di riconoscerli e verbalmente indicarne il nome, entro una finestra temporale di due secondi. 4) Ogni prova si concludeva con una Condizione di Baseline, della durata da 2500 ms a 3500 ms (+ / - 500 ms). La durata di ogni singola prova è stata perciò di 14 secondi. Ogni Condizione (esclusa la Baseline) è stata presentata 40 volte, per un totale di 160 video-clips presentati (4 video-clips in ciascun blocco). I triggers (ogni "etichetta" che ha definito un evento sperimentale) sono stati inviati da E-Prime al sistema di acquisizione EEG, segnando l'inizio di ogni evento sperimentale. I triggers successivamente sono stati utilizzati per le analisi off-line.

Durante ogni sessione di registrazione, l'esperimento è stato interrotto cinque volte, al fine di dare un periodo di riposo ai partecipanti e verificare l'intenzione di continuare l'esperimento. Durante l'intera sessione sperimentale lo sperimentatore è stato seduto vicino al bambino, facendo attenzione ai suoi movimenti corporei o del capo, disponibile ad assistere eventuali necessità e / o richieste. Inoltre, tutte le sessioni sperimentali sono state video registrate per verificare off-line artefatti dovuti ai movimenti dei partecipanti.

Il software di Net Station (Electrical Geodesic, Inc., Eugene, OR, USA) ha permesso di applicare uno strumento di rilevazione degli Artefatti per individuare e respingere le parti di tracciato contaminate da artefatti oculari. Per rilevare gli artefatti causati dalla chiusura e apertura delle palpebre ("eyes blink"), sono stati utilizzati due gruppi di tre elettrodi ciascuno, posizionati sopra e sotto l'occhio destro e sinistro. Per rilevare i movimenti oculari in sono stati invece impiegati una coppia di elettrodi posizionati lateralmente all'occhio destro e all'occhio sinistro.

Per escludere la possibilità che alcuni dei partecipanti potessero non guardare gli stimoli presentati, e dunque respingere tali prove, al termine di ogni sessione di registrazione è stato proposto un ulteriore compito. In questo compito, ai partecipanti è stato richiesto di guardare e seguire una croce bianca, presentata su schermo nero, che si muoveva in senso diagonale

verso quattro traiettorie (dal centro dello schermo, verso quattro punti corrispondenti agli angoli estremi relativi dello spazio di presentazione dei filmati). Durante questo compito è stato registrato l'elettrooculogramma (EOG) mediante gli elettrodi utilizzati dallo strumento di rilevamento degli artefatti oculari (vedi descrizione riportata sopra). Per ogni partecipante, i valori registrati (in mV) durante questo compito sono stati considerati come soglia individuale per l'individuazione delle prove in cui i partecipanti non hanno mantenuto lo sguardo all'interno della finestra di presentazione dei filmati. Il segnale EOG è stato registrato utilizzando come referenza CZ.

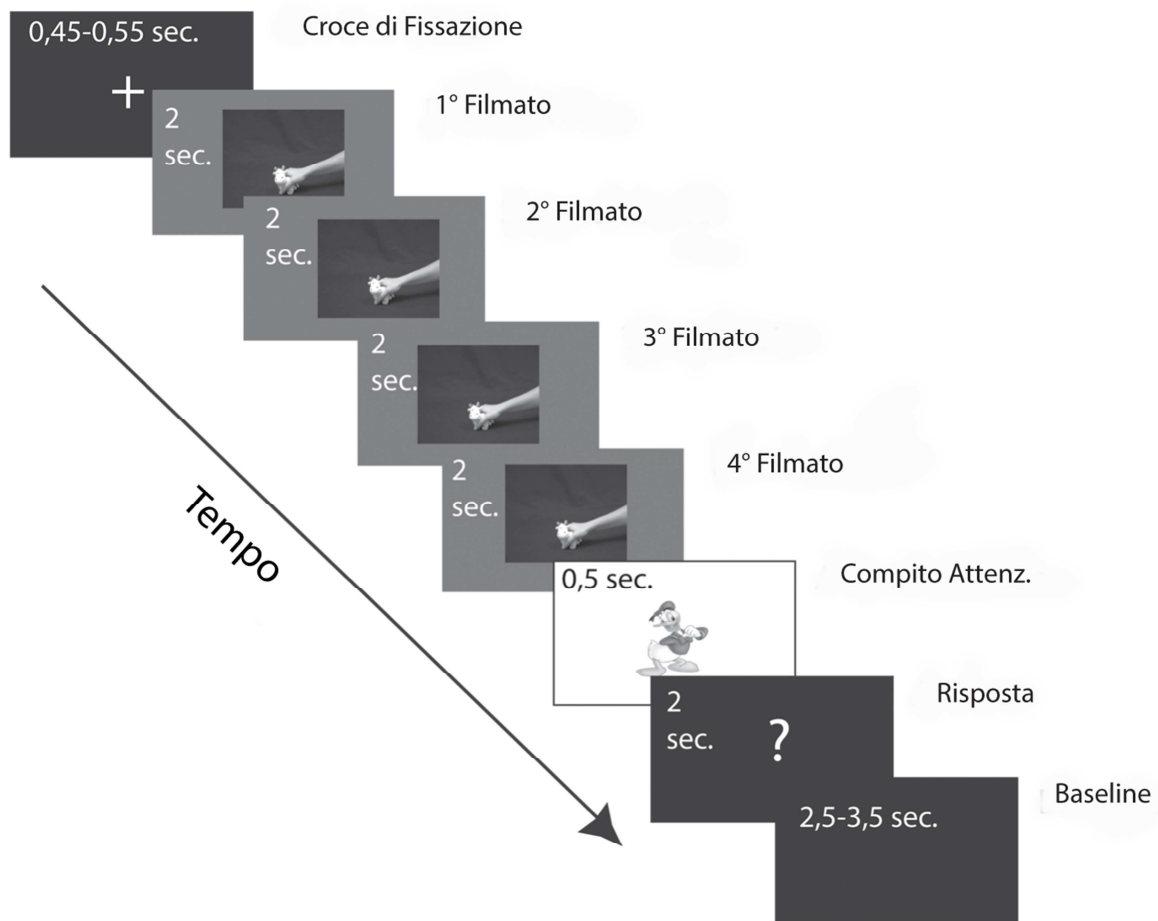


Figura 2. Paradigma sperimentale: croce di fissazione, video-clips, compito di attenzione, Baseline.

Registrazioni EEG

Le registrazioni EEG sono state eseguite, in tutti i bambini, con cuffie da 128 elettrodi (Sistema: Electrical Geodesic, Inc., Eugene, Oregon, USA). La frequenza di campionamento è stata a 250 Hz, con filtri in acquisizione a 0,3-100 Hz. L'EEG è stato registrato con il vertice (Cz) come referenza. Le impedenze di tutti i 128 elettrodi sono state misurate e ritenute accettabili solo ad un livello inferiore di 50 k Ω .

Analisi dei dati EEG

Le analisi sui segnali EEG sono state realizzate utilizzando il Software "NetStation 4,3". I tracciati, off-line, sono stati filtrati da 1 a 30 Hz. I dati EEG sono stati segmentati, ossia tagliati in epoche, intorno agli eventi di interesse. Su tali epoche sono state realizzate le analisi successive. Al fine di evitare artefatti dovuti alla trasformata di Wavelet (si veda sotto), che normalmente si evidenziano ai bordi dei segmenti su cui è stata applicata, per ciascun segmento della durata di 2000 ms è stata selezionata una finestra più ampia di 2400 ms (incluso, dunque, delle porzioni aggiuntive di EEG rispetto ad ogni epoca su cui sono state indirizzate le analisi: da -200 a 0 e da 2000 a 2200, appunto, per evitare tale tipologia di artefatto). Ogni segmento è poi stato corretto mediante divisione della baseline pre-stimolo da -200 a 0 ms. I canali con voltaggio inadeguato o contaminati da artefatti continui, sono stati interpolati (Metodo: 3spline).

Tutti i segmenti con artefatti EEG sono stati individuati e esclusi dalle analisi successive. L'individuazione degli artefatti è stata effettuata a 3 diversi livelli: 1) mediante parametri di default impostati nel software di analisi; 2) mediante registrazione dell'Oculogramma (EOG); 3) mediante ispezione visiva delle tracce EEG. Al termine di questa fase, i dati sono stati nuovamente ri-referenziati, con referenza media.

Le analisi tempo-frequenza sono state realizzate con la trasformata Wavelet (Wavelet Morlet, con fattore di scala di frequenza impostato a 7, da 1 a 30 Hz). I coefficienti Wavelet medi sono stati calcolati calcolando la media per ogni segmento e per ogni Condizione.

Per individuare un picco di frequenza individuale nella banda alfa sensori-motoria è stata condotta una ulteriore analisi, tramite l'analisi delle Wavelet (Pfurtscheller et al., 1999; Southgate et al., 2009). Per ogni partecipante è stato rilevato un chiaro picco di attività individuale durante la Condizione di Baseline (la nostra Condizione di “riposo” del sistema motorio), su due gruppi di 8 elettrodi intorno a C3 e C4 (vedi sopra). A tale picco individuale di frequenza selezionato è stato aggiunto poi ± 1 Hz, in modo da ricavare per ogni bambino una banda di 3-Hz. La banda di frequenza media per il gruppo a ST è stata individuata a 9,4 Hz (DS = $\pm 1,17$) (cfr. tabella, 2), la banda di frequenza media per il gruppo con DSA è stata individuata a 9,1 Hz (DS = $\pm 0,92$). Un t-test, indipendente a due code condotto sulle bande di frequenza medie, ha dimostrato l'assenza di differenze tra i due gruppi ($p = 0.491$). Al fine di controllare la possibile variabilità individuale nella potenza assoluta della Baseline e normalizzare i dati EEG, l'ampiezza al quadrato (μV^2) ricavata dalla analisi con le Wavelet è stata trasformata in rapporto logaritmico tra le Condizioni sperimentali e la potenza della Baseline. In scala logaritmica tali valori negativi rappresentano una diminuzione della potenza dell'alfa sensori-motorio, mentre valori positivi indicano un incremento di potenza.

**Tabella 2. Picco individuale di frequenza
DSA**

Sogg.	Età	PF
1	15,5	9
2	8,8	10
3	9,6	9
4	13,2	9
5	10,6	9
6	13,2	10
7	9,5	7
8	12,1	10
9	9,8	9
M	11,4	9,1
SD	2,3	0,9

ST

Sogg.	Età	PF
1	10,2	10
2	9,1	9
3	10,5	10
4	11,6	8
5	5	9
6	12,2	10
7	12,6	10
8	4,7	7
9	10,8	11
10	9,6	10
M	9,6	9,3
SD	2,7	1,2

Analisi statistica

La selezione degli elettrodi su cui sono state condotte le analisi è stata basata su studi precedenti che hanno indicato che gli elettrodi intorno a C3 e C4 nel sistema 10-20 riflettono più accuratamente l'attività sensori-motoria (Pfurtscheller et al., 1999; Müller et al., 2000). Inoltre, la selezione di specifici clusters di elettrodi è stata realizzata tenendo in considerazione ricerche precedenti in cui è stato investigato l'alfa sensori-motorio con il nostro stesso sistema di acquisizione EEG, in compiti di esecuzione/osservazione di azioni di mano (Muthukumaraswamy et al., 2004 a,b; Bernier et al., 2007).

Sono stati dunque selezionati due gruppi di 8 elettrodi ciascuno, su entrambi gli emisferi e tutte le analisi successive riflettono l'attività media su ciascuno di questi otto cluster di canali. Poiché le fasi cruciali di afferramento per il confronto tra la Condizione "Interamente Visibile" e la Condizione "Oscurata" hanno luogo dalla comparsa del pannello nero fino al termine della fase di afferramento (vedi figura 2), le analisi statistiche sono state effettuate sulle seguenti epoche: T1, T2 e T3. La finestra di tempo utilizzata per l'analisi statistica è stata dunque di 750 ms: da 250 ms (dopo l'inizio della presentazione del video clip) a 1000 ms.

Per studiare la modulazione dell'alfa sensori-motorio è stata effettuata una ANOVA a misure ripetute, con Gruppo (DSA e ST) come fattore tra i partecipanti e Emisfero (Destro, Sinistro), Condizione ("Interamente Visibile", "Oscurata"), Oggetto (Neutri, Giocattoli) come fattori entro i partecipanti.

In alcuni recenti studi il funzionamento del MS è stato investigato per mezzo di un paradigma di fMRI chiamato "soppressione per ripetizione". La "soppressione per ripetizione" si basa sul presupposto che molti neuroni sensoriali adattano la loro risposta quando il loro stimolo "preferito" è presentato più volte (si veda, Dinstein, 2008). Al fine di indagare la presenza di eventuali "effetti di adattamento" nella banda alfa sensori-motoria è stata effettuata una ulteriore ANOVA a misure ripetute con Gruppo (DSA e ST) come fattore tra i partecipanti, Condizione ("Interamente Visibile", "Oscurata"), Emisfero (Destra, Sinistra), Oggetto (Neutri, Giocattoli) e Ripetizione (video clip 1, video clip 4) come fattori entro i partecipanti.

Dal momento che è possibile che il ritmo centrale alfa possa essere influenzato dall'alfa posteriore visivo, e in parte sovrapporsi ad esso, è stata condotta una ulteriore analisi statistica sugli elettrodi occipitali. A tale fine sono stati selezionati due gruppi di 4 elettrodi ciascuno intorno a O1 e O2. E' stata effettuata una ANOVA a misure ripetute, con Gruppo (DSA e ST)

come fattore tra i partecipanti, Emisfero (Destra, Sinistra), Condizione (“Interamente Visibile”, “Oscurata”), e Oggetto (Neutri, Giocattoli), come fattori entro i partecipanti. Su tutti gli effetti significativi ed interazioni sono stati eseguiti confronti pianificati. Inoltre, è stata effettuata una analisi statistica complementare, al fine di indagare possibili differenze in termini di Baseline tra i due gruppi di partecipanti sulla potenza dell’alfa durante l’osservazione di 2 secondi di schermo nero (Baseline). La potenza dell’alfa sensori-motorio è stata estratta in due gruppi centrali di elettrodi e suddivisa in 8 intervalli temporali da 250 ms. Questi valori sono stati inseriti in una ANOVA a misure ripetute con gruppo (DSA e ST) come fattore tra i partecipanti, e Tempo come fattore entro i partecipanti (8 livelli).

Con lo scopo di verificare se le modulazioni dell’alfa sensori-motorio possano essere associate ai sintomi del DSA, sono state realizzate delle analisi di correlazione. All’interno del gruppo DSA, la potenza dell’alfa sensori-motorio nelle diverse Condizioni sperimentali è stata correlata con i punteggi delle valutazioni cliniche di ADOS e delle relative sotto-scale.

Al fine di verificare se le modulazioni dell’alfa sensori-motorio possano essere influenzate dall’età dei partecipanti, sono state effettuate delle analisi di correlazione tra l’età dei partecipanti e la potenza dell’alfa sensori-motorio misurata in ogni Condizione e Gruppo.

Per tutte le analisi statistiche valori di $p \leq 0,05$ sono stati considerati significativi.

2.1.2 Risultati

Quantificazione della soppressione dell'alfa sensori-motorio.

I risultati della ANOVA a misure ripetute eseguita sui valori trasformati in scala logaritmica, hanno evidenziato un effetto significativo principale per Condizione [$F(1,17) = 5.4, p = 0.03$], con interazioni significative per Emisfero x Oggetto x Gruppo [$F(1,17) = 16, p = 0.00$] e Emisfero x Condizione x Oggetto x Gruppo [$F(1,17) = 10.7, p = 0.00$]. Non sono emerse significatività per altri fattori principali o interazioni (tutti $p > 0.05$).

I test Post hoc applicati sul fattore significativo Condizione mostrano che la Condizione “Interamente Visibile” è significativamente più efficace nella soppressione dell'alfa sensori-motorio rispetto all'osservazione della Condizione “Oscurata” in entrambi i gruppi di partecipanti ($p = 0.03$).

L'interazione principale significativa tra tutti i fattori della ANOVA ha consentito di eseguire due ANOVA separate, una per la Condizione “Interamente Visibile” e una per la Condizione “Oscurata” con Emisfero (Sinistro e Destro), Oggetto (Neutro e Giocattoli) e Gruppo (DSA e ST) come fattori principali.

L'ANOVA effettuata sulla Condizione “Interamente Visibile” ha mostrato un'interazione significativa per Emisfero x Oggetto x Gruppo [$F(1,17) = 17.6, p = 0.00$] (si veda, fig. 3a).

Sono stati eseguiti i confronti pianificati per esplorare ulteriormente questa interazione. Nei bambini a ST è stata individuata una soppressione bilaterale dell'alfa sensori-motorio durante l'osservazione dell'afferramento dell'oggetto neutro, mentre durante l'osservazione dell'afferramento del giocattolo è stata individuata una risposta più forte per l'emisfero destro, rispetto a quello sinistro ($p = 0.00$). Al contrario, i bambini con DSA hanno mostrato un livello molto modesto di soppressione dell'alfa sensori-motorio nell'emisfero destro durante l'osservazione della mano che afferra un giocattolo. Questa risposta notevolmente ridotta è stata confermata dal risultato significativo ($p = 0.00$) evidenziato dal confronto pianificato eseguito nell'emisfero destro tra i bambini con DSA e a ST durante l'osservazione della mano che afferra il giocattolo nella Condizione “Interamente Visibile”.

Un altro risultato di rilievo è stato la mancanza di soppressione dell'alfa sensori-motorio nel gruppo con DSA nell'emisfero sinistro durante l'osservazione dell'afferramento di un oggetto neutro in piena visione (si noti che con il rapporto logaritmico, i valori negativi rappresentano

una diminuzione della potenza dell'alfa sensori-motorio, mentre i valori positivi un incremento di essa). In questa Condizione i bambini con DSA mostrano un valore positivo nel rapporto logaritmico, indicando un aumento di potenza dell'alfa rispetto alla Baseline. La specificità emisferica di questa mancanza di risposta è stata dimostrata dalla presenza di una forte soppressione dell'alfa nell'emisfero destro (confronto tra emisfero destro e sinistro statisticamente significativo ($p = 0,03$)).

L'osservazione di afferramento nella Condizione "Oscurata" ha indotto una soppressione dell'alfa in entrambi i gruppi di bambini. Tuttavia, non è stata evidenziata alcuna modulazione per l'identità dell'oggetto afferrato o per l'emisfero (si veda, fig. 3b). Questi risultati sembrano indicare che per l'osservazione dell'atto motorio oscurato la soppressione dell'alfa sensori-motorio mostra una perdita di specificità per l'oggetto e per l'emisfero attivato.

Infine, l'analisi di controllo effettuata sugli elettrodi occipitali ha dimostrato che l'alfa visivo posteriore non ha mostrato alcuna modulazione. In particolare, l'ANOVA non ha mostrato effetti significativi o interazioni principali (tutti $p > 0,05$).

I risultati dell'ANOVA effettuata al fine di valutare eventuali differenze tra le Baseline nei due gruppi di partecipanti hanno mostrato significatività solo per l'effetto tempo [$F(7, 119) = 6.23, p = 0,00$]. Questi risultati mostrano chiaramente che la potenza dell'alfa sensori-motorio nella Baseline non differisce tra i due gruppi.

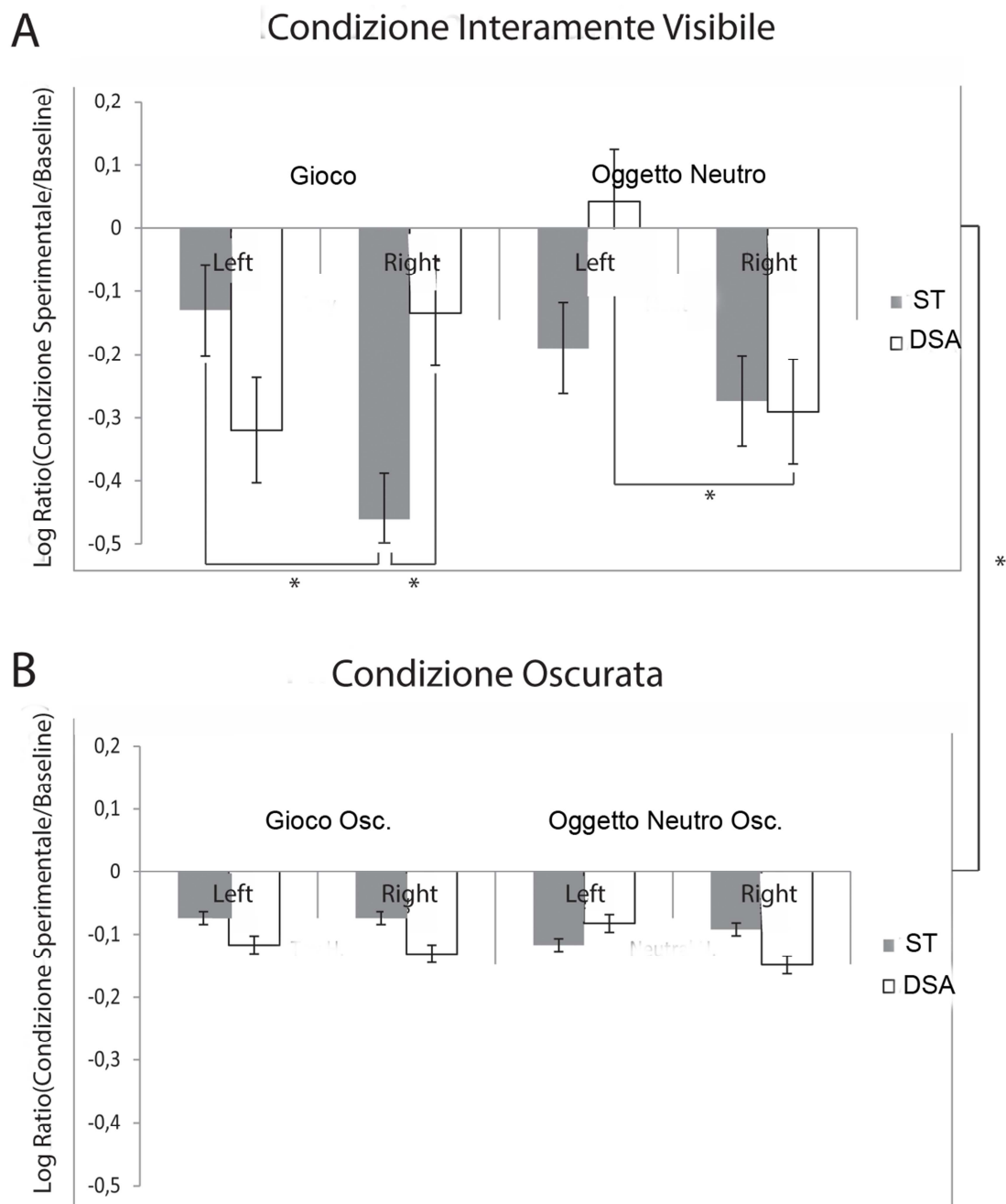


Figura 3. Risultati analisi spettrale per i bambini a ST e i bambini con DSA. (a) Modulazioni dell’alfa sensori-motorio per la Condizione “Interamente Visibile”. (b) Modulazioni dell’alfa sensori-motorio per la Condizione “Oscurata”.

Analisi della soppressione per ripetizione

Al fine di valutare una possibile influenza, sulla potenza dell'alfa sensori-motorio da effetti di abitudine dovuti alla ripetizione per 4 volte dello stesso stimolo, è stata effettuata una analisi statistica complementare.

A questo scopo è stato realizzato un confronto tra la potenza dell'alfa sensori-motorio (espressa in μV^2) tra la prima e l'ultima presentazione dei video clip (video clip 1 e videoclip 4). L'ANOVA condotta con Emisfero (Destro, Sinistro), Condizione ("Interamente Visibile", "Oscurata"), Ripetizione (video clip 1 e video clip 4) e Oggetto (Neutro, Giocattolo) come fattori entro i gruppi, e Gruppo (ST, DSA) come fattore tra i gruppi, non ha mostrato effetti significativi principali o interazioni (tutti $ps > 0,05$).

Questi risultati indicano che l'osservazione ripetuta dello stesso stimolo per 4 volte consecutive non modula la soppressione dell'alfa sensori-motorio per entrambi i gruppi di partecipanti.

Correlazioni tra la soppressione dell'alfa sensori-motorio la gravità dei sintomi e l'età

Nella Condizione "Interamente Visibile" sono emerse alcune correlazioni statisticamente significative tra la gravità dei sintomi nei bambini con DSA e la potenza dell'alfa sensori-motorio nell'emisfero destro durante l'osservazione dell'afferramento del Giocattolo. I bambini con DSA hanno mostrato una correlazione significativa e negativa tra la soppressione di potenza dell'alfa sensori-motorio nell'emisfero destro e la sottoscala sociale della ADOS ($r = -0,67$, $p = 0,04$). È stata rilevata anche una correlazione marginalmente significativa e negativa tra la soppressione di potenza dell'alfa sensori-motorio nell'emisfero destro con il punteggio totale dell'ADOS ($r = -0,63$, $p = 0,06$).

Per la Condizione "Oscurata" non sono emerse correlazioni statisticamente significative. I risultati delle analisi effettuate al fine di indagare l'esistenza di correlazioni tra l'età dei partecipanti e la soppressione della potenza dell'alfa sensori-motorio non hanno mostrato alcuna significatività (tutti $ps > 0,05$). Tale risultato indica che la soppressione dell'alfa

sensori-motorio registrato in risposta all'osservazione, indipendentemente dal tipo di oggetto, non è stata influenzato dall'età dei partecipanti.

2.1.3 Discussione

La presenza di deficit motori nei bambini con DSA, nonostante sia un dato che è stato descritto numerose volte, è comunemente considerata una problematicità marginale di questo disturbo. Ad esempio, l'analisi dei filmati famigliari di bambini che successivamente saranno diagnosticati come DSA ha evidenziato la presenza di disturbi precoci di movimento tra i quattro e i sei mesi di età (Teitelbaum et al. 1998). Tali problemi motori, valutati in bambini in età prescolare con DSA, sembrano perdurare nel tempo (Van Waelvelde et al., 2010). Deficit motori precoci e che persistono nel tempo sono per questo ritenuti cruciali nella definizione del fenotipo comportamentale del disturbo autistico. Questi deficit motori acquisiscono una grande rilevanza teorica in relazione alla cognizione sociale, in quanto è stato dimostrato che i bambini con DSA non riescono ad anticipare le conseguenze finali dell'azione, sia quando l'azione viene eseguita, sia quando l'azione viene osservata (Cattaneo et al., 2007). Inoltre, Boria et al. (2009) hanno dimostrato che i bambini con DSA hanno difficoltà a comprendere le intenzioni altrui quando devono fare affidamento solo su indicazioni motorie, come ad esempio il modo in cui si afferra un oggetto.

A differenza di una prospettiva convenzionale esclusivamente mentalista dell'intersoggettività, si può ipotizzare che aspetti importanti della cognizione sociale si basino sulla capacità di anticipare, capire gli obiettivi e le intenzioni motorie delle azioni altrui, e che tale capacità sia fondata sulla modalità con cui è organizzato il nostro sistema corticale motorio. Questa capacità è stata definita cognizione motoria (Gallese et al., 2009; Gallese et al., 2012). L'ipotesi della cognizione motoria fornisce un nuovo approccio allo studio della cognizione sociale nel DSA. Una conseguenza di questa ipotesi è che la comprensione dell'azione è strettamente correlata al corretto sviluppo e organizzazione funzionale del nostro sistema motorio.

Congruentemente con questa ipotesi, nel presente studio abbiamo utilizzato il paradigma originale di Umiltà et al. (2001) per esplorare la funzionalità del MS in bambini con DSA e a ST. A nostra conoscenza, negli esseri umani un paradigma simile è stato investigato esclusivamente in bambini di nove mesi a ST (Southgate et al., 2010).

Un'ulteriore elemento di novità di questo studio consiste nel aver indagato il ruolo dell'identità dell'oggetto nel modulare la risposta del MS, in bambini con ST e con DSA. La motivazione nell'impiego di due tipologie di oggetto è stata la seguente: mentre l'osservazione di oggetti

neutri come solidi geometrici fornisce informazioni probabilmente esaustive su ciò che l'agente sta facendo, l'osservazione dei giocattoli potrebbe fornire informazioni aggiuntive sul potenziale uso dell'oggetto, cioè circa l'intenzione motoria dell'atto motorio osservato (“perché viene afferrato?”).

In particolare, abbiamo studiato l'intensità della soppressione dell'alfa sensori-motorio durante l'osservazione di una mano che afferrava due diverse categorie di oggetti (sfere 3D di legno e giocattoli) in due diverse Condizioni sperimentali (azione interamente visibile, azione parzialmente oscurata).

Il primo risultato che merita di essere evidenziato è la significativa soppressione dell'alfa sensori-motorio in entrambi i gruppi di bambini durante l'osservazione dell'atto motorio parzialmente oscurato. Ciò conferma, come atteso, il risultato riportato in bambini di pochi mesi da Southgate et al. (2010). Inoltre, i nostri risultati dimostrano che questa soppressione è più intensa nella Condizione “Interamente Visibile”, rispetto a quella “Oscurata”.

Le ragioni per cui l'osservazione di un atto motorio visibile induce una minore soppressione rispetto ad uno parzialmente nascosto potrebbero essere molteplici. In primo luogo, alcuni dati recenti sul MS nell'uomo enfatizzano che la corteccia post-centrale debba essere considerata parte integrante del circuito dei Neuroni Specchio (si veda, Keysers et al., 2010; Arnstein et al., 2011). In ragione di questa ipotesi, è possibile che la Condizione “Interamente Visibile” renda più esplicite le conseguenze sensoriali dell'azione osservata (ad esempio, l'interazione/contatto mano-oggetto). Tale informazione è chiaramente mancante nella Condizione “Oscurata” e di conseguenza si manifesta una ridotta attivazione del MS. Se questa ipotesi è vera, i nostri risultati indicherebbero che entrambi i gruppi di bambini sono ugualmente sensibili alla quantità di conseguenze somato-sensoriali “visibili” dell'azione osservata. In secondo luogo, ricordiamo che Umiltà et al. (2001) hanno dimostrato che solo il 50% dei Neuroni Specchio testati nella corteccia premotoria del macaco rispondevano alla Condizione “Oscurata”. Di conseguenza, i nostri risultati potrebbero anche dipendere da un numero minore di Neuroni Specchio attivati in questa Condizione.

I nostri risultati hanno mostrato che durante l'osservazione dell'atto motorio “Interamente Visibile” i bambini a ST presentano una soppressione dell'alfa sensori-motorio bilaterale, più pronunciata nell'emisfero destro durante l'osservazione dell'afferramento del giocattolo. Gli atti motori osservati sono in grado di indurre una soppressione sensori-motoria bilaterale, indicando una codifica sia del “che cosa”, l'atto di afferrare, sia verosimilmente del “perché” potenziale, evocato dall'osservazione dell'afferramento del giocattolo. Al contrario, la

soppressione nei bambini con DSA è molto ridotta nell'emisfero destro durante l'osservazione dell'afferramento del giocattolo, mentre manca totalmente nell'emisfero sinistro durante l'osservazione dell'afferramento dell'oggetto neutro. Il diverso schema di soppressione dell'alfa sensori-motorio nei due emisferi nel gruppo con DSA durante l'osservazione dell'afferramento dei due tipi di oggetti sembra indicare un funzionamento alterato del MS. Infatti, in un recente studio di EEG con localizzazione delle sorgenti, condotto su adulti sani (Ortigue et al., 2010), è stato mostrato un circuito corticale lateralizzato a sinistra che avrebbe la funzione di rilevare lo scopo dell'atto motorio osservato ("che cosa?") e un circuito lateralizzato a destra che servirebbe per rilevare l'intenzione motoria ("perché?") dell'atto motorio osservato.

La mancanza di soppressione dell'alfa sensori-motorio nell'emisfero sinistro dei bambini con DSA durante l'osservazione dell'afferramento dell'oggetto neutro suggerisce che, quando nessuna informazione circa la semantica dell'oggetto o del contesto in cui l'azione si svolge è disponibile, i bambini con DSA non riescono ad attivare il MS nell'emisfero sinistro.

Inoltre, il livello significativamente ridotto di soppressione dell'alfa sensori-motorio nell'emisfero destro durante l'osservazione della mano che afferra il giocattolo, indica che i bambini con DSA hanno difficoltà ad usare la semantica dell'oggetto nell'attivare il MS a destra, normalmente attivato quando diverse intenzioni motorie potenziali per l'atto motorio osservato sono in gioco. Tale dato è ulteriormente corroborato dalla significativa correlazione negativa tra la potenza dell'alfa sensori-motorio nell'emisfero destro durante l'osservazione della mano che afferra il giocattolo, e la sottoscala sociale dell'ADOS.

Un ulteriore risultato interessante del nostro studio è la mancanza di modulazione dell'oggetto ed emisfero nella soppressione dell'alfa sensori-motorio nella Condizione "Oscurata" sia nei bambini con DSA che nei bambini a ST. Si può ipotizzare che quando l'interazione tra la mano che afferra e l'oggetto non è visibile, almeno con l'analisi utilizzata in questo studio in termini di soppressione dell'alfa sensori-motorio, il MS specifichi solo l'identità dell'atto motorio ("si tratta di un'afferramento"), senza discriminare ulteriormente l'intenzione motoria potenziale alla base dell'atto motorio. Tale aspetto fondamentale del MS non sembra essere lateralizzato e sembra funzionare anche nel presente campione di bambini con DSA ad alto funzionamento.

Infine, nel tentativo di chiarire i risultati controversi di fMRI sul paradigma di adattamento "soppressione per ripetizione" sul MS (Dinstein, 2008; Dinstein et al., 2010; per una discussione, si veda anche, Rizzolatti, Sinigaglia, 2010; Gallese et al., 2011), abbiamo

studiato per la prima volta la soppressione dell'alfa sensori-motorio mediante una "analisi di soppressione per ripetizione ". I nostri risultati indicano che l'osservazione degli stessi stimoli ripetuta 4 volte consecutive non modula la soppressione dell'alfa sensori-motorio in entrambi i gruppi di partecipanti. Questo risultato dimostra che la soppressione per ripetizione non è probabilmente un criterio idoneo per stabilire la funzionalità del MS, sia in individui sani che affetti da DSA, sollecitando quindi cautela quando si confrontano procedure di neuro-immagine con studi di elettrofisiologia.

In conclusione, l'ipotesi della cognizione motoria fornisce un nuovo approccio allo studio dello sviluppo della cognizione sociale nel DSA. In linea con Gallese, Rochat, Berchio (2012), con la consapevolezza che la complessità clinica di questo disturbo non possa essere ridotta ad un semplice deficit nella cognizione motoria o unicamente ad un malfunzionamento del MS, proponiamo che alcuni dei disturbi sociali cognitivi manifestati nel DSA possano essere attribuiti ad una compromissione specifica nella intrinseca organizzazione del sistema motorio corticale.

2.2 Studio due: I circuiti parieto-frontali in età evolutiva durante l'osservazione di atti motori visibili o parzialmente oscurati

2.2.1 Materiali e metodi

Campione

Le acquisizioni EEG sono state realizzate su un campione di 17 bambini a Sviluppo Tipico, reclutati attraverso la Fondazione IRCCS Stella Maris (Calambrone, Pisa). Il campione finale è costituito da 12 bambini: 6 Femmine, 6 maschi (età media: 10.5, deviazione standard: $\pm 2,15$). Cinque soggetti sono stati esclusi per la presenza di eccessivi artefatti elettroencefalografici nelle registrazioni. Tutti i bambini inclusi nello studio hanno una acuità visiva normale o corretta, nessuna storia pregressa di disturbi psichiatrici o neurologici e sono destrimani.

Questo studio è stato approvato da un apposito comitato etico locale ed è stato realizzato in conformità agli standard etici. Tutti i genitori hanno dato il loro consenso informato per l'inclusione dei bambini nello studio.

Stimoli e procedure

L'esperimento ha previsto tre Condizioni sperimentali (Figura 1): (1) osservazione di un video-clip di una mano che afferra un oggetto (Condizione “Interamente Visibile”); (2) osservazione di un video-clip di una mano che afferra un oggetto, in cui l'interazione tra la mano e l'oggetto non è visibile (Condizione “Oscurata”); (3) osservazione di uno schermo nero (Condizione di Baseline).

Per mantenere l'attenzione dei bambini, sono stati mostrati diversi tipi di oggetti “afferrabili”: giocattoli (una piccola mucca di peluche, una macchinina), delle sfere 3D (piccole e grandi), alcuni strumenti (un telefono cellulare, un mazzo di chiavi).

Il software utilizzato per la presentazione della sessione sperimentale è stato E-Prime 2.0 (Psychology Software Tools). I filmati (dimensione di 479x720) sono stati presentati ad una distanza di 80 cm dal corpo del partecipante, mostrati su uno sfondo nero, a 30 fotogrammi x secondo. Per ridurre le differenze percettive tra le Condizioni, nella Condizione “Oscurata” lo schermo nero è stato inserito al video-clip della Condizione “Interamente Visibile”, per mezzo di uno specifico software di montaggio video (Adobe Premiere Pro 2.0). Inoltre, al fine di ridurre artefatti dovuti a movimenti oculari, i filmati sono stati presentati al centro dello sfondo nero ri-dimensionati del 50% rispetto alla loro dimensione originale, sia in larghezza che in altezza.

Ogni prova è iniziata con una croce di fissazione bianca presentata al centro di uno schermo nero (con durata randomizzata da 450 a 550 ms) (Figura 1), seguita da un video clip. Ogni filmato, di durata di 2 secondi, è stato ripetuto quattro volte consecutive con disegno a blocchi semi-randomizzato. I blocchi sono stati randomizzati entro lo stesso partecipante e tra i soggetti. Complessivamente, ciascuna delle tre Condizioni è stata ripetuta 72 volte. Inoltre, per garantire che i partecipanti prestassero attenzione ai video, è stata aggiunta una Condizione di “Attenzione”: alla fine di ogni blocco i bambini sono stati istruiti a indicare il nome di un personaggio Disney (ad esempio, Topolino, Pluto...), presentato per 500 ms; i bambini sono stati istruiti ad indicarne il nome all’interno di una finestra temporale di 2s. Successivamente, è stata fatta seguire la Condizione di Baseline randomizzata in lunghezza temporale da 2500 a 3500 ms.

L’intera durata della sessione sperimentale è stata video registrata mediante una videocamera sincronizzata al sistema di acquisizione EEG. La telecamera è stata posta di fronte ai bambini con lo scopo di monitorarne il comportamento.

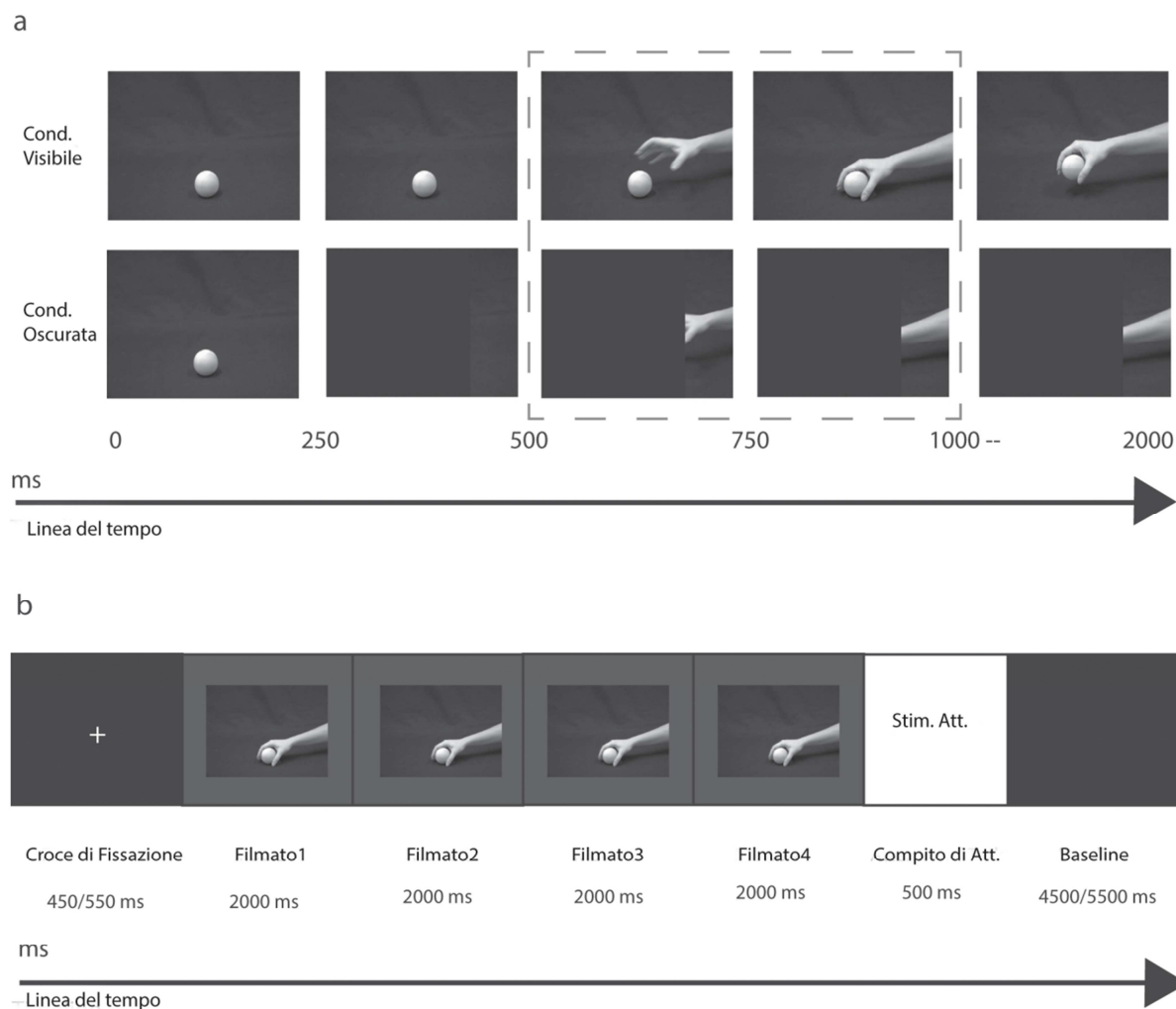


Figura. 1 Stimoli e paradigma sperimentale. (a) Rappresentazione della linea Temporale della Condizione “Interamente Visibile” e “Oscurata”. Nei primi 250 ms, in entrambe le Condizioni vi è la comparsa dell'oggetto. Da 250 a 500 ms, nella Condizione “Interamente Visibile” l'oggetto è ancora visibile, nella Condizione “Oscurata” appare uno schermo nero che nasconde l'oggetto. Da 500 a 750 ms, in entrambe le Condizioni, appare la mano (“fase di raggiungimento ”). Da 750 a 1000 ms, nella Condizione “Interamente Visibile” la mano afferra l'oggetto, nella Condizione “Oscurata” la mano scompare dietro lo schermo nero (“fase di afferramento ”). Da 1000 a 2000 ms, nella Condizione “Interamente Visibile” la mano trattiene l'oggetto, nella Condizione “Oscurata” c'è ancora lo schermo nero, ed è solamente visibile parte del braccio dello sperimentatore. Il rettangolo tratteggiato indica la fase di raggiungimento e di presa. (b) Sequenza della procedura sperimentale: croce di fissazione, video-clip, compito di attenzione, Baseline.

Registrazioni EEG e fase di pre-processamento

L'EEG è stato registrato con cuffie da 128 canali (Electrical Geodesic Inc., USA, Oregon), con frequenza di campionamento a 250 Hz, filtrato con filtro passa banda da 0,3-100 H, Cz come referenza. Per ciascun elettrodo l'impedenza è stata mantenuta inferiore a 50 k Ω . Le analisi off-line sono state realizzate utilizzando il software Cartool 3,52 (<http://brainmapping.unige.ch/cartool.htm>). Le epoche EEG sono state tagliate da -100 (prima della comparsa dello stimolo) a + 1000 ms (dopo l'inizio dello stimolo). Su tali epoche è stata eseguita una media separata per la Condizione "Interamente Visibile" e la Condizione "Oscurata". Un filtro passa banda, da 1-30 Hz è stato applicato off-line, e i dati sono stati ri-referenziati al voltaggio medio (Average Reference). I canali "non adatti" sono stati interpolati (metodo di interpolazione: spline 3D), implementato nel software Cartool. La media tra le epoche è stata eseguita dopo l'eliminazione degli artefatti EEG. I canali con un'ampiezza superiore a ± 65 mV sono stati individuati e le relative epoche sono state escluse. Un'ulteriore ispezione visiva è stata effettuata da due sperimentatori indipendenti. In totale, una media di 47 epoche "pulite" sono state ottenute per la Condizione "Interamente Visibile" e una media di 46 prove "pulite" nella Condizione "Oscurata" (Figura 2). E' stato realizzato un t-test indipendente a due code sul numero di prove accettate per ogni bambino. Esso non ha mostrato differenze nel numero di epoche respinte tra le Condizioni ($p = 0,7$).

Per le successive analisi, i canali EEG periferici situati sulla nuca sono stati esclusi e il modello originale è stato ridotto da 128 a 110 canali.

Dato che lo scopo principale di questo esperimento è stato quello di indagare le dinamiche temporali che portano alla comprensione delle azioni osservate nei bambini, la nostra attenzione è stata focalizzata sull'epoca che va dal momento della comparsa dell'atto motorio al raggiungimento del suo scopo, la presa dell'oggetto (da 500 a 1000 ms). Tutte le analisi riportate di seguito riguardano la "fase di raggiungimento" e la "fase di afferramento" per entrambe le Condizioni.

Grande Media

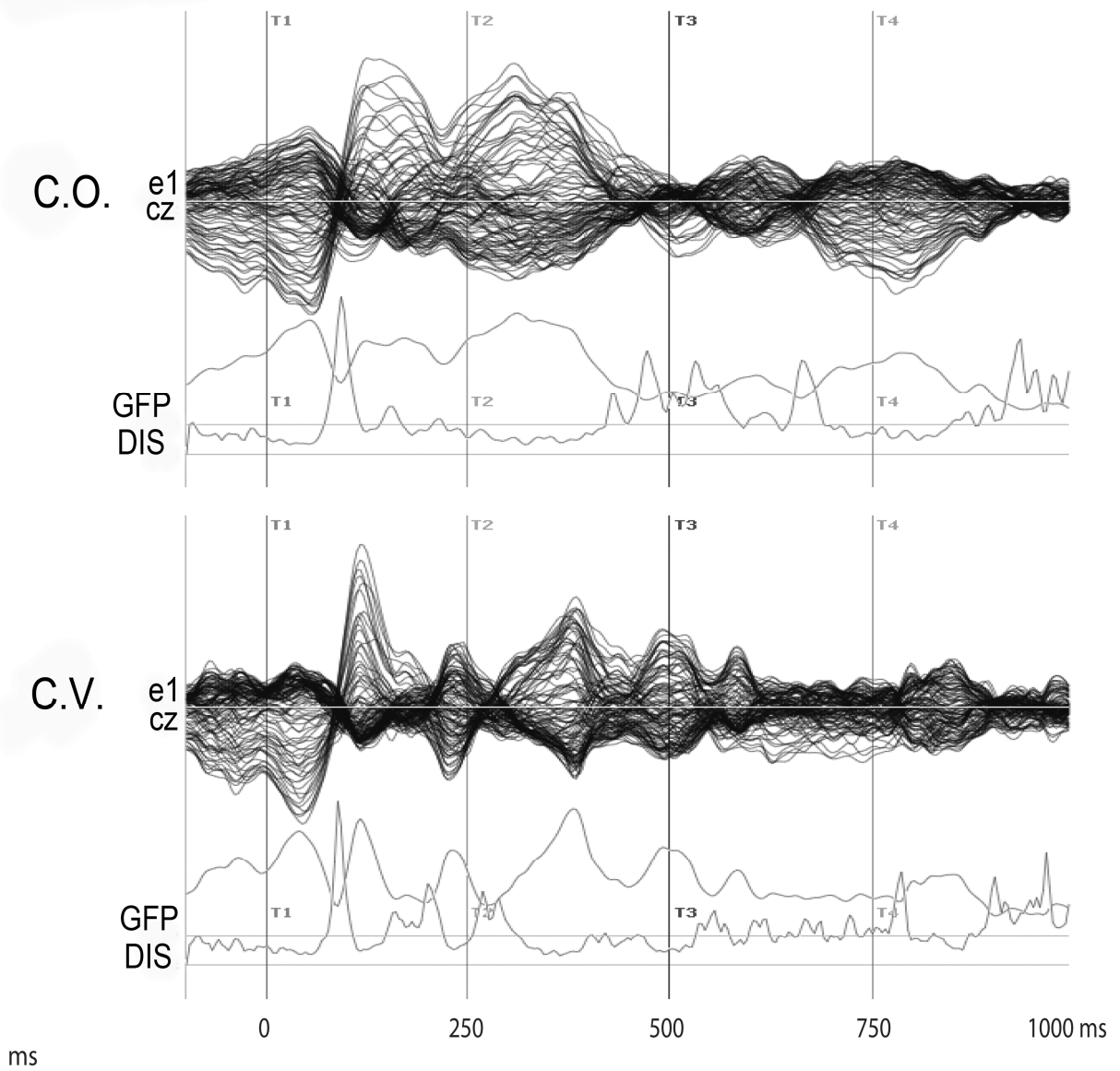


Figura. 2 Montaggio “Butterfly”, con media “complessiva” dei tracciati su 12 bambini: per la Condizione “Oscurata” e la Condizione “Interamente Visibile”. Sono mostrati la Potenza di Campo Globale (GFP) e l’indice di Dissimilarità (DIS).

a Analisi EEG di scalpo

Analisi delle Ampiezze

Un approccio ampiamente utilizzato per l'analisi degli ERP è quello di misurare l'ampiezza e la latenza di forme d'onda particolari, in specifici canali e in finestre temporali prefissate. Tuttavia, esistono metodi più esaustivi (Michel et al 2004, p120). Invece di limitare l'analisi ad alcuni elettrodi e ad una finestra temporale specifica, il confronto delle ampiezze può essere esteso a tutti gli elettrodi e a tutti gli istanti temporali. Questo metodo consente di indagare eventuali differenze di ampiezze su tutti i canali e ad un intero intervallo temporale. I vantaggi di questo tipo di analisi sono molteplici: gli effetti possono essere controllati in tutti gli elettrodi e non solo in elettrodi pre-selezionati, tutti i punti temporali vengono studiati. Le differenze di ampiezza tra la Condizione “Interamente Visibile” e la Condizione “Oscurata” sono state testate per ciascuno dei 110 elettrodi e ciascun punto temporale (attraverso molteplici t-test). Il livello di significatività è stato fissato per valori di $p < 0,01$ e con un vincolo temporale di 20 ms, ossia con significatività non inferiore ai 20 ms.

Analisi di topografia delle mappe EEG: l'analisi TANOVA

Le mappe topografiche EEG rappresentano il potenziale registrato sullo scalpo su tutta la testa e sono caratterizzate da particolari "paesaggi" (topografie). Topografie differenti indicano generatori cerebrali differenti (Michel, Murray, 2012). Pertanto, testare differenze di topografia tra le Condizioni permette direttamente di verificare l'ipotesi che i generatori cerebrali sottostanti siano differenti.

Due misure sono comunemente utilizzate per descrivere le topografie delle mappe nell'EEG: la Potenza Globale di Campo (Global Field Power, GFP) e la Dissimilarità Globale (Dissimilarity, DISS). La GFP (vedere fig. 2) è la deviazione standard dalla media di tutti i potenziali, ed è una misura della consistenza delle mappe. Periodi caratterizzati da alti valori di GFP corrispondono a periodi di stabilità nelle configurazioni delle mappe. Per indicare,

invece, periodi di transizione delle mappe, l'indice utilizzato è la DISS che è una misura della differenza tra due mappe adiacenti, ossia un valore di forza della differenza tra due mappe, normalizzato mediante la GFP (Michel, Murray, 2012). La DISS rappresenta, quindi, una misura globale della differenza tra le mappe topografiche.

Al fine di verificare le differenze nella topografia tra la Condizione “Interamente Visibile” e la Condizione “Oscurata” in termini di configurazioni di campo, è stata condotta una "ANOVA Topografica" (Topography ANOVA, TANOVA). Nonostante il nome, la TANOVA è un test non parametrico di randomizzazione, che pone a confronto la diversità di GFP tra le Condizioni (per spiegazioni più dettagliate si veda Michel et al. 2004, Michel, Murray 2012).

La TANOVA è stata eseguita nella nostra finestra d'indagine da 500 a 1000ms. Sono stati considerati significativi solo effetti con valori di p inferiori a 0,05 e di durata maggiore a 20 ms.

b Analisi delle sorgenti dei Potenziali Evocati

Per misurare le sorgenti cerebrali dei Potenziali Evocati l'algoritmo applicato è stato LAURA (Local Auto Regressive Average, LAURA, Grave de Peralta Menedez et al. 2001). LAURA appartiene alla famiglia delle soluzioni inverse lineari distribuite (Michel et al., 2004). La distribuzione media, di origine intracranica, è stata calcolata per ogni Condizione per tutti i soggetti. Relativamente al così detto “problema in avanti” (“forward problem”), il modello anatomico di testa applicato è stato L-SMAC (Brunet et al, 2011; Spinelli et al, 2000). L-SMAC è un modello che prevede tre gusci sferici. Sono stati inclusi 3.007 punti di soluzione, sistemati all'interno della sostanza grigia in un cervello medio di MNI pediatrico, di età compresa tra 7,5 anni a 13,5 anni (NIHPD324 modello pediatrico, Fonov et al. 2009, Fonov et al. 2012).

Per mezzo di una trasformazione non lineare le coordinate cerebrali sono state convertite da MNI allo spazio di Talairach (<http://imaging.mrc-cbu.cam.ac.uk/imaging/MniTalairach>).

Per confrontare la distribuzione delle sorgenti tra le due Condizioni sono state realizzate due fasi di analisi. La prima, per valutare separatamente le attivazioni di ciascuna Condizione rispetto alla Condizione di Baseline (100 ms di schermo nero). I confronti statistici sono stati

condotti eseguendo un t-test appaiato per ogni punto di soluzione (t-test appaiato, "voxel-by-voxel"). Questa prima fase di analisi è stata realizzata con lo scopo di ottenere un contrasto diretto con la Condizione di riposo del sistema motorio. Pertanto, prima abbiamo stimato statisticamente le attivazioni significative a livello di singolo voxel (0.5x0.5x0.5 mm) per le due Condizioni separatamente. Successivamente è stato effettuato un contrasto diretto tra la Condizione "Interamente Visibile" e la Condizione "Oscurata" (analisi di contrasto). Per l'analisi di contrasto, analogamente alla prima, è stato applicato un t-test voxel-a-voxel appaiato.

Tutte le analisi relative alle sorgenti cerebrali sono state calcolate in due finestre temporali: da 500 a 760 ms; da 760 a 1000 ms. Sono state riportate esclusivamente differenze significative, con valori di $p < 0,05$ e durata consecutiva maggiore di 20 ms.

2.2.2 Risultati

a Analisi di superficie EEG:

Analisi delle Ampiezze

Per studiare le differenze tra le Condizioni, abbiamo confrontato l'ampiezza degli ERP tra la Condizione "Interamente Visibile" e la Condizione "Oscurata", a partire dall'inizio del movimento di raggiungimento (500ms) per ciascun elettrodo (vedi Fig. 3 b). L'analisi delle ampiezze ha evidenziato differenze significative in cinque finestre temporali. Nella fase iniziale del "movimento di raggiungimento" (500-530 ms) si è osservata una positività più marcata per la Condizione "Interamente Visibile" sugli elettrodi occipitali di sinistra (intorno a O1), con picco massimo a 510 ms. In seguito, da 550 a 670 ms, sono state registrate delle ampiezze più positive nella Condizione "Oscurata" a livello di siti centrali e parietali di destra. Più precisamente, intorno a P8 con un picco massimo a 600 ms, intorno a C4 e P4 con un picco massimo a 625 ms. Al termine della "fase di raggiungimento", nella finestra temporale tra 690 a 810 ms, le differenze più significative sono state individuate nei siti parietali di destra (elettrodi P3 e P7, con picco massimo a 780 ms), con potenziali più positivi nella Condizione "Interamente Visibile". Durante la "fase di afferramento", da 830 a 900 ms, i potenziali evocati hanno mostrato una deflessione più negativa a livello centro-parietale per la Condizione "Oscurata" in corrispondenza degli elettrodi C3 e P3, con un massimo a 865 ms. Alla fine della "fase afferramento" (920-970 ms), gli ERP hanno mostrato un picco significativamente più positivo per la Condizione "Oscurata", a sinistra a livello di elettrodi occipitali e parietali (circa P7 e O1, a 952 ms), negativo per la Condizione "Oscurata" a livello di elettrodi parietali di destra (P4, a 952 ms).

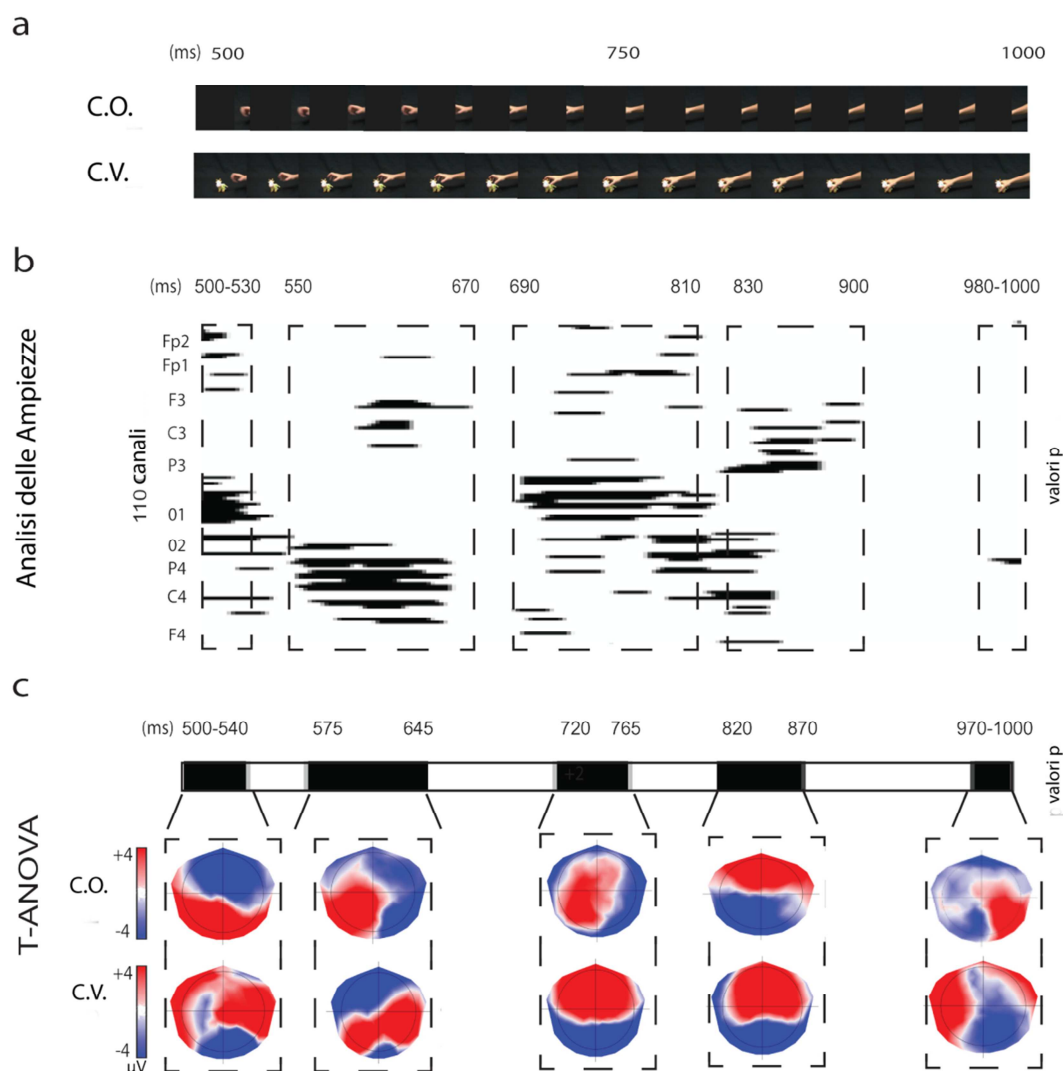


Figura 3 (a) Video clips relativi alla Condizione “Interamente Visibile” e alla Condizione “Oscurata”. Vengono mostrati i singoli fotogrammi, per entrambe le Condizioni, da 500 a 1000 ms. (b) Confronto tra le ampiezze degli ERP tra la Condizione “Interamente Visibile” e la Condizione “Oscurata”. Sull'asse verticale sono riportati i canali, sull'asse orizzontale è indicato il tempo. Le linee nere indicano valori p di differenze significative ($p < 0,05$) di ampiezza nel tempo tra le due Condizioni. I rettangoli tratteggiati visualizzano le finestre di tempo di differenza tra le Condizioni statisticamente significative. (c) Risultati della TANOVA. Nella parte superiore della figura sono indicati periodi di differenze statisticamente significative tra le mappe, indicati da barre nere ($p < 0,05$). Vengono mostrate le mappe che descrivono i periodi di differenza. I rettangoli tratteggiati indicano le finestre di tempo per le differenze statisticamente significative tra le Condizioni.

TANOVA

Per verificare se tali differenze di ampiezza erano dovute a modulazioni topografiche, abbiamo calcolato l'analisi della varianza topografica tra le due Condizioni, per ogni istante temporale, per ogni bambino. L'analisi TANOVA ha mostrato che le mappe differiscono tra le Condizioni in cinque finestre temporali: 500-540 ms; 575-645 ms, 720-765 ms, 820-870 ms, 970-1000 ms. I risultati della TANOVA sono mostrati nella Figura 3 (Fig. 3c).

b Analisi delle Sorgenti dei Potenziali Evocati

Abbiamo analizzato l'andamento nel tempo della distribuzione di corrente tra le Condizioni Sperimentali e la Condizione di Baseline, illustrando le differenze statisticamente significative. Questo approccio ha permesso di definire le aree cerebrali attivate rispetto alla Condizione di Baseline. Inoltre, tali attivazioni cerebrali sono state descritte con riferimento alle finestre temporali rilevate dall'analisi TANOVA.

Per la Condizione “Interamente Visibile” (cfr. Tabella 1) è stato individuato un aumento di attivazione (evidenziato da valori positivi di t) nelle aree frontali (una parte più ventrale e una più dorsale del giro frontale medio; nel giro frontale superiore), nel lobo parietale inferiore e nelle aree parietali superiori. Inoltre, sono state individuate attivazioni a livello di prefrontale di sinistra e attivazioni a livello di occipitale di destra. La Tabella 1 riassume le coordinate in MNI e Talairach, a livello di Massimo di corrente di densità, per ciascuno di questi foci.

Per la Condizione “Oscurata” (cfr. Tabella 2), la soluzione distribuita inversa LAURA ha mostrato le seguenti attivazioni: a livello frontale (evidenziato da valori positivi di t) a sinistra, nel giro frontale (ventralmente) e nel giro frontale superiore; a destra, nel giro frontale (dorsalmente). Inoltre, sono state individuate attivazioni prefrontali (giro frontale superiore), così come a livello parietale nel lobo parietale inferiore, nel lobo parietale superiore sinistro, nel precuneus e nel giro post centrale. Infine, sono state riscontrate diverse attivazioni occipitali.

Nella Tabella 2 sono mostrate, per la Condizione “Oscurata”, le coordinate di MNI e di Talairach, al punto di corrente di densità Massima per ciascuno di questi foci.

Per validare statisticamente se queste attivazioni cerebrali fossero diverse o meno tra le Condizioni è stata eseguita un'ulteriore analisi di confronto “diretto” tra la Condizione “Interamente Visibile” e la Condizione “Oscurata”. Attivazioni esemplificative sono mostrate nella Fig.4.

Tabella1. Condizione Visibile: coordinate MNI and Talairach
Massimo di densità di corrente per ogni attivazione

	MNI			Talairach			t	P
	<i>x</i>	<i>y</i>	<i>z</i>	<i>x</i>	<i>y</i>	<i>Z</i>		
Brodmann Area 6								
<i>Giro Frontale Medio (Ventrare)</i>								
Sinistra	-43	11	58	-42	13	53	2.6	0.02
Destra	51	12	51	50	14	46	2.4	0.04
<i>Giro Frontale Medio (Dorsale)</i>								
Destra	35	11	67	35	14	61	4.6	0.01
<i>Giro Frontale Superiore</i>								
Sinistra	-27	27	58	-19	27	67	2.7	0.02
Destra	27	4	75	24	-1	70		
Brodmann Area 40								
<i>Lobo Parietale Inferiore</i>								
Sinistra	-43	11	58	-43	13	53	2.8	0.02
Brodmann Area 7								
<i>Lobo Parietale Superiore</i>								
Sinistra	-32	-54	60	-31	-49	58	2.8	0.02
<i>Precuneo</i>								
Sinistra	-7	-55	60	-7	-50	57	2.5	0.04
Destra	6	-54	60	6	-50	57	2.1	0.04
Brodmann Area 8								
<i>Giro Frontale Superiore</i>								
Sinistra	-19	51	51	-19	51	44	3	0.01
Brodmann Area 18								
<i>Giro Linguale</i>								
Sinistra	-11	-74	4	-11	-71	7	2	0.04
Destra	11	-74	4	11	-71	7	2	0.04

Tabella 2. Condizione Oscurata: coordinate MNI and Talairach
Massimo di densità di corrente per ogni attivazione

	MNI			Talairach			t	P
	x	y	z	x	y	z		
Brodmann Area 6								
<i>Giro Frontale Medio (Ventrale)</i>								
Sinistra	-43	11	58	-42	13	53	4.4	0.01
<i>Giro Frontale Medio (Dorsale)</i>								
Destra	35	11	67	35	14	61	3	0.02
<i>Giro Frontale Superiore</i>								
Sinistra	-19	27	67	-19	29	60	2.3	0.04
Destra	5	11	67	5	14	61		
Brodmann Area 40								
<i>Lobo Parietale Inferiore</i>								
Sinistra	-51	-35	58	-50	-31	55	2.4	0.04
Destra	58	-43	51	50	-40	49	4	0.01
Brodmann Area 7								
<i>Lobo Parietale Superiore</i>								
Sinistra	-32	-48	56	-36	-56	54	2.4	0.04
<i>Precuneo</i>								
Sinistra	-11	-51	67	-16	-53	54	2.2	0.04
Destra	31	-50	55	30	-45	52	2.6	0.03
<i>Giro Postcentrale</i>								
Sinistra	-24	-53	71	-24	-48	68	2.8	0.02
Brodmann Area 5								
<i>Giro Postcentrale</i>								
Sinistra	-33	-50	63	-32	-45	60	2.6	0.03
Brodmann Area 9								
<i>Giro Frontale Medio,</i>								
Sinistra	-4	54	43	-4	54	37	2.2	0.04
Destra	4	54	43	4	54	-37	2.5	0.03
Brodmann Area 10								
<i>Giro Frontale Superiore</i>								
Destra	11	72	19	11	71	14	2.2	0.04
Brodmann Area 17								
<i>Cuneo</i>								
Sinistra	-4	-82	4	-4	80	7	2.3	0.04
Destra	11	-82	4	11	-79	8	2.8	0.02
Brodmann Area 18								
<i>Giro Linguale</i>								
Sinistra	-11	-74	4	-11	-71	7	2.2	0.04
Destra	27	-79	1	27	-79	1	2.2	0.04
Brodmann Area 19								
<i>Cuneo</i>								
Sinistra	-34	-75	27	-34	-72	28	3.2	0.01
Destra	11	-82	27	11	-78	29	2	0.04

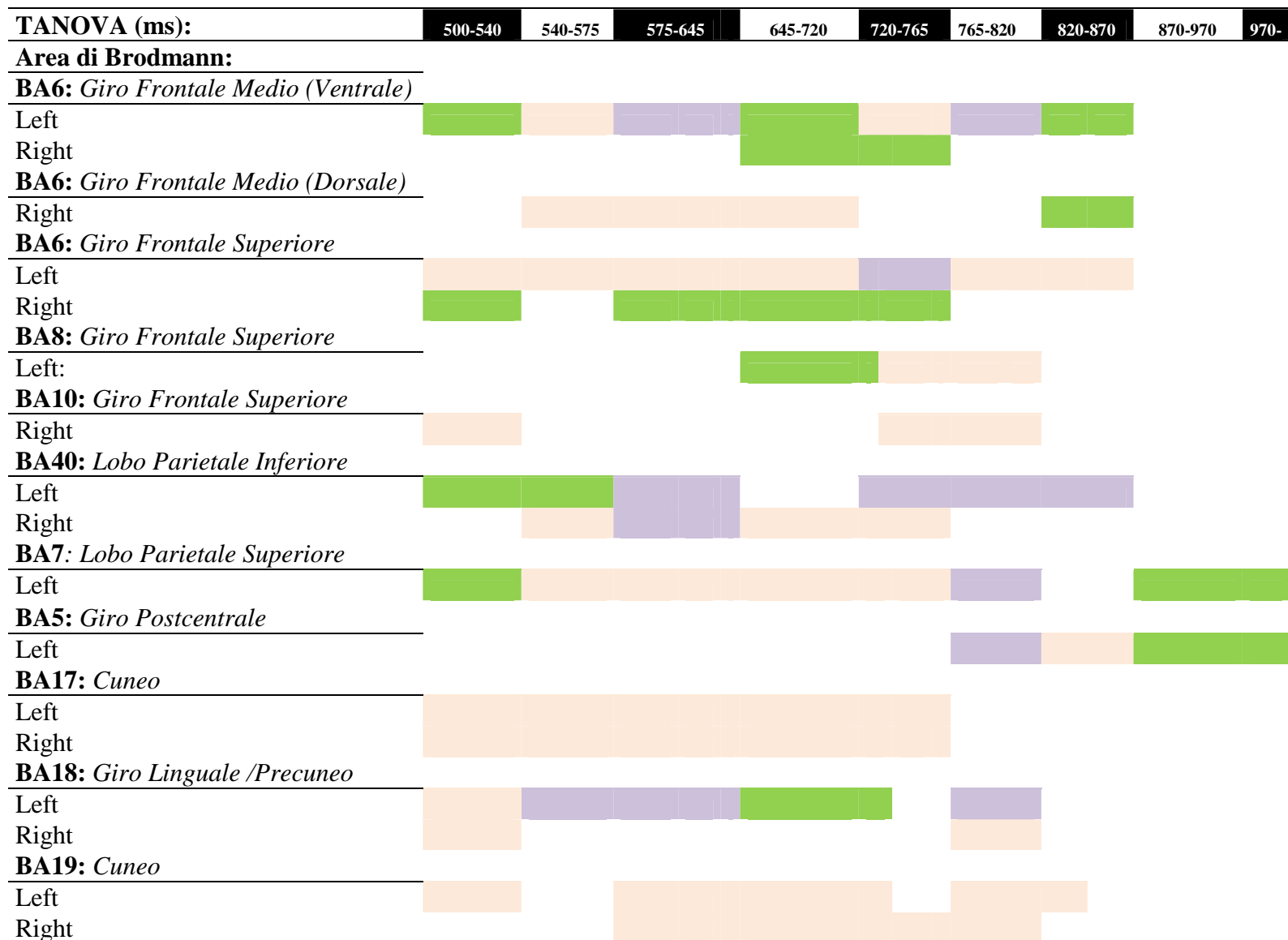
Nella prima finestra temporale di differenza rilevata dalla TANOVA (500-540 ms) è stato riscontrato un aumento di attivazione per la Condizione “Interamente Visibile” (evidenziato da valori t positivi) nel lobo parietale superiore sinistro. Un incremento di attivazione per la Condizione “Oscurata” (evidenziato da valori di t negativi) è stato riscontrato nelle aree visive, e nella corteccia prefrontale.

Nella seconda finestra identificata dalla TANOVA (575-645 ms) è stato individuato un aumento di attivazione per la Condizione “Oscurata” nella corteccia premotoria ventrale di sinistra e dorsale di destra, e occipitale.

Nella terza finestra rilevata dalla TANOVA (720-765 ms) è stato individuato un aumento di attivazione per la Condizione “Interamente Visibile” nella corteccia premotoria ventrale di destra. Una maggiore attivazione per la Condizione “Oscurata” è stata riscontrata nel lobo parietale inferiore di destra, nel lobo sinistro superiore e in altre aree visive.

Nella quarta finestra TANOVA (820-870 ms) è stato trovato un incremento di attivazione per la Condizione “Interamente Visibile” in premotoria ventrale di sinistra e a destra nella sua parte dorsale. Nella Condizione “Oscurata” una maggiore attivazione è stata riscontrata nel giro frontale superiore sinistro e nel lobo parietale superiore sinistro.

Si noti che alcune delle differenze rilevate interessano attivazioni condivise (dato rilevato dalla precedentemente analisi con la Condizione di Baseline). Ne deriva che queste differenze evidenziano diversità di intensità di processi condivisi. L'analisi di contrasto su queste attivazioni condivise ha rivelato una risposta più forte nella Condizione “Oscurata” rispetto alla Condizione “Interamente Visibile” nel lobulo parietale superiore (mappa: 765-820 ms), nel giro frontale medio ventrale (mappa: 575-645 ms). Analogamente, l'assenza di differenza in attivazioni condivise, mostrata dall'analisi con la Condizione Baseline, rivela similarità nell'intensità di queste risposte nel lobulo parietale inferiore sinistro (mappa: 575-870 ms) e nel giro frontale superiore (mappa : 720 a 765ms).



ATTIVAZIONI:

C. VISIBILE

C. OSCURATA

COMUNI

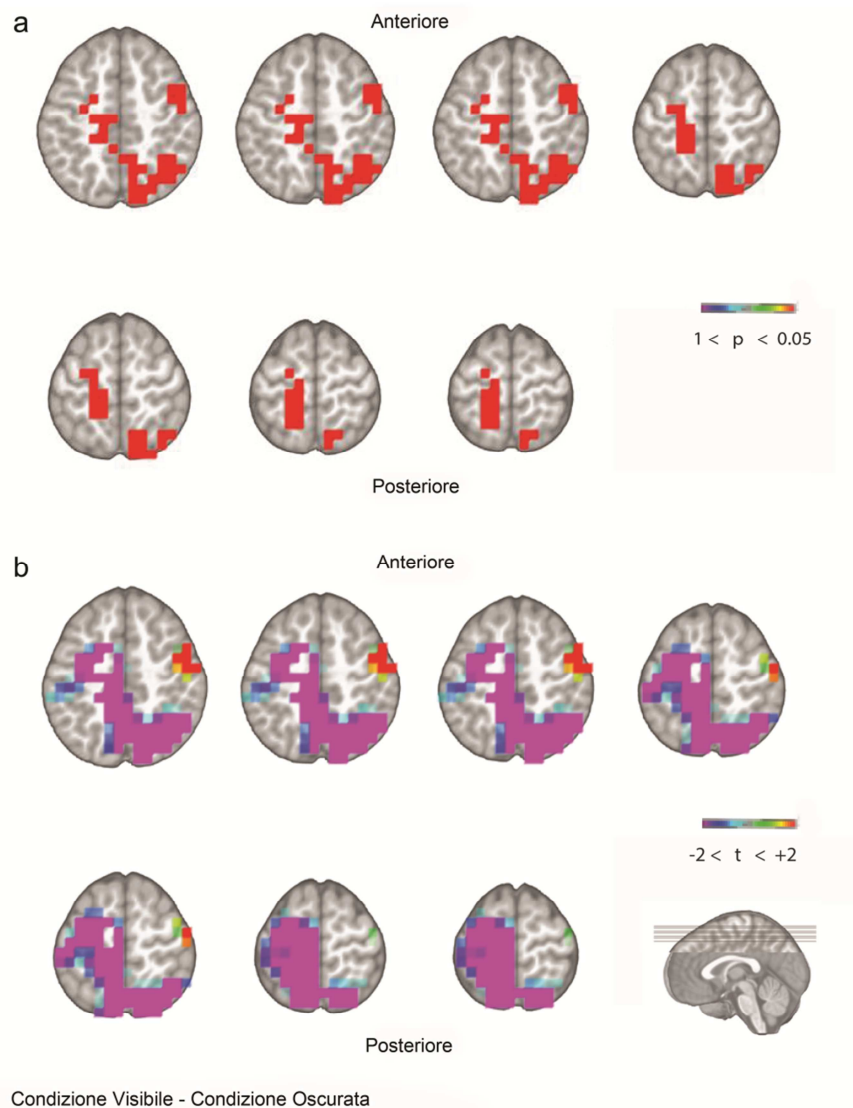


Figura 4. Localizzazione delle Sorgenti (LAURA): differenza tra la Condizione “Interamente Visibile” e la Condizione “Oscurata”. Vengono presentate attivazioni statisticamente significative durante la "fase di afferramento" (terza finestra TANOVA: 720-765 ms). Le stime di localizzazione sono rese su un modello pediatrico di MNI. (A) Il colore rosso corrisponde a valori di p significativi. (B) Sono visualizzati i valori di T (corrispondenti ai valori di p). I colori rosso-arancio indicano forte densità di corrente per la Condizione “Interamente Visibile”, mentre i colori blu-viola indicano forte densità di corrente per la Condizione “Oscurata”.

2.2.3 Discussione

Diversi studi hanno dimostrato che anche nei bambini fin dai primi mesi di vita è possibile individuare un meccanismo che presenta proprietà funzionali simili a quelle descritte per il MS negli adulti (Marshall e Meltzoff, 2011). Tuttavia, la maggior parte degli studi EEG condotti in neonati e bambini, si sono concentrati principalmente sull'analisi del ritmo alfa sensori-motorio. L'uso di tecniche più sofisticate di indagine potrebbe essere in grado di far luce su nuove e irrisolte questioni, come una descrizione più fine dei circuiti cerebrali con proprietà Specchio e il loro ruolo nella comprensione delle azioni. In questa prospettiva, le potenzialità di analisi fornite dalla localizzazione delle sorgenti del segnale EEG offre la possibilità di ottenere un'elevata risoluzione temporale accompagnata dalla precisa localizzazione dei foci di attivazione cerebrale (Michel, Murray, 2012). Tali proprietà di indagine definiscono questo metodo come uno dei più adeguati per lo studio del MS in età evolutiva.

Nella presente tesi, con il metodo della localizzazione delle sorgenti del segnale elettroencefalografico, abbiamo dimostrato che nei bambini in età scolare l'osservazione di una azione di afferramento, sia essa "Interamente Visibile" o "Parzialmente Oscurata", evoca l'attivazione di aree corticali ritenute parte integrante del "circuito Specchio di afferramento" come la corteccia premotoria e il lobo parietale inferiore (si veda, Rizzolatti, Sinigaglia 2010; Molenberghs et al., 2012). Negli adulti è ben noto che la corteccia parietale è coinvolta nell'elaborazione delle informazioni relative all'azione, quali forma, orientamento, movimento degli oggetti e la comprensione dell'azione (Cuhlman e Valyear, 2006).

In un recente studio EEG realizzato da Ortigue et al. (2010), è stato documentato l'andamento temporale delle attivazioni corticali durante l'osservazione di atti motori di mano ("afferrare un oggetto" vs. "toccare un oggetto"), in assenza o presenza di un contesto. Il contesto consisteva nella presenza di oggetti che circondavano l'oggetto "target" e che potevano suggerire due differenti intenzioni motorie potenziali: prendere un bicchiere per bere vs. prendere un bicchiere per spostarlo. Nella fase iniziale di osservazione degli atti motori presentati ai partecipanti, per tutte le condizioni esaminate, è stata trovata una diffusa attivazione corticale posteriore (occipito-parietale) bilaterale. In una seconda fase è stata descritta un'attivazione più marcata a sinistra nella corteccia temporale posteriore e nella corteccia parietale inferiore. In una terza fase del periodo di osservazione, è stato rilevato un aumento di attivazione in regioni temporali e parietali di destra accompagnate da attivazioni

frontali bilaterali. In questa terza fase, sono state individuate differenze in termini di durata delle attivazioni corticali con attivazioni più prolungate per l'interazione più complessa mano-oggetto (ad esempio, afferrare un oggetto per trasportarlo, piuttosto che soltanto toccare l'oggetto). Nell'ultima fase, è stata descritta una generale diminuzione delle attivazioni corticali.

Per quanto concerne il nostro studio, come è stato descritto nella sezione dei risultati, gli ERP registrati nelle Condizioni “Interamente Visibile” e “Oscurata” hanno mostrato forme d'onda differenti sia in termini di ampiezza che di durata. L'applicazione dell'analisi delle sorgenti effettuata mediante la risoluzione del così detto “problema inverso” ha mostrato che queste condizioni evocavano attivazioni cerebrali significativamente differenti.

Nella Condizione “Interamente Visibile”, la fase iniziale dell'osservazione dell'atto motorio coincide con l'osservazione del raggiungimento e del contemporaneo pre-shaping della mano. Durante tale fase, sono state osservate attivazioni significative nella corteccia premotoria ventrale e parietale inferiore di sinistra. Durante la fase successiva di osservazione dell'atto motorio, coincidente con il completamento dell'afferramento, sono state osservate attivazioni nella corteccia premotoria ventrale di destra e nella corteccia parietale inferiore di destra, in concomitanza con la scomparsa delle precedenti attivazioni lateralizzate a sinistra. Sebbene i nostri risultati presentino analogie con quelli ottenuti da Ortigue e collaboratori (2010), si rende necessaria una considerazione fondamentale: oltre alle attivazioni parietali, dimostrate da Ortigue e collaboratori, i nostri risultati evidenziano la significativa attivazione della corteccia premotoria ventrale. Abbiamo in tal modo dimostrato che l'osservazione dell'atto motorio in piena visione attiva bilateralmente l'intero "circuito Specchio per l'afferramento". Inoltre, è interessante notare che la bilateralità di attivazione non ha luogo contemporaneamente. Infatti, l'emisfero sinistro è coinvolto solo durante la prima fase di osservazione dell'atto motorio, mentre quello di destra prevale durante la fase successiva. Tale dato suggerisce differenze funzionali tra l'emisfero di destra e quello di sinistra. La modulazione in termini temporali delle attivazioni corticali rappresenta un risultato che non è possibile documentare negli studi condotti utilizzando la risonanza magnetica funzionale in ragione della limitata risoluzione temporale che caratterizza questa tecnica.

È stato ipotizzato che durante l'osservazione di atti motori che implicano l'interazione mano-oggetto, abbiano luogo due distinti processi la cui realizzazione porta alla comprensione dell'intenzionalità motoria dell'agente osservato (Ortigue et al., 2010). Il primo processo porta al riconoscimento del significato dell'atto motorio osservato ed è associato alla

semantica dell'oggetto ("Che cosa sta facendo l'agente" ad esempio, "Afferrare una tazza"). Il secondo processo consente la comprensione dell'intenzione motoria sottesa all'atto motorio stesso ("Perché la tazza è afferrata in quella particolare maniera?", ad esempio "Per bere"). Mentre il lobo parietale inferiore sinistro sarebbe coinvolto nel riconoscimento del "che cosa" un'altra persona sta facendo, l'attivazione parietale inferiore di destra potrebbe essere coinvolta nella comprensione dell'intenzione motoria. Si ipotizza che questi due processi siano strettamente collegati: se il primo non è completato, il secondo non avrà luogo.

Se interpretiamo i nostri dati alla luce di questo modello teorico, è possibile ipotizzare che le attivazioni iniziali lateralizzate a sinistra possano essere considerate come la manifestazione del processo di una codifica del "cosa" si sta osservando operata dal MS. Questo risultato dimostrerebbe che, non solo negli adulti ma anche nei bambini, l'osservazione di un atto motorio completamente "trasparente" attivi il MS così da consentire la codifica di "che cosa" stia facendo l'agente osservato: afferrare un oggetto.

Mantenendo l'interpretazione dei nostri dati all'interno dello stesso modello teorico, una possibile interpretazione della successiva attivazione parieto-premotoria destra potrebbe essere che questa rappresenti la comprensione dell'intenzione motoria ("perché"). Tuttavia, dato che nel nostro paradigma sperimentale il fattore "contesto" non è stato in alcun modo manipolato, questa interpretazione non può che limitarsi ad essere una mera speculazione. Una valida ipotesi alternativa potrebbe essere che l'attivazione del circuito Specchio di destra potrebbe riflettere la codifica del tipo di prensione utilizzata per afferrare l'oggetto, in altre parole il "come".

L'analisi dei risultati ottenuti nella Condizione "Oscurata", ha messo in evidenza che analogamente alla Condizione "Interamente Visibile", l'osservazione del raggiungimento e del contemporaneo pre-shaping della mano determina attivazioni significative nella corteccia premotoria ventrale e parietale inferiore di sinistra. In questa fase iniziale, all'attivazione del circuito Specchio di sinistra si aggiunge una significativa risposta del lobo parietale inferiore di destra. Nella fase successiva, durante la quale il completamento dell'atto motorio di afferramento non è visibile e quindi può essere solo inferito dall'osservatore, sono state nuovamente registrate attivazioni della corteccia premotoria ventrale sinistra e della corteccia parietale inferiore bilaterale. Tuttavia, nella Condizione "Oscurata" le attivazioni differiscono da quelle registrate nella Condizione "Interamente Visibile" principalmente in due aspetti: in primo luogo, le due fasi producono sostanzialmente lo stesso modello di attività corticale, in secondo luogo, non si registra alcuna attivazione della corteccia ventrale premotoria destra. E'

possibile ipotizzare che la mancanza di informazioni visive su come si realizza l'atto motorio di afferramento sia la ragione della mancata attivazione premotoria destra, nella misura in cui la componente del "come" dell'atto motorio osservato non è disponibile alla vista dell'osservatore.

Un altro aspetto interessante che emerge dall'analisi dei risultati del nostro esperimento è che in entrambe le Condizioni l'attivazione del MS non è limitato alla corteccia premotoria ventrale e al lobo parietale inferiore. Infatti, si rilevano anche attivazioni nella corteccia premotoria dorsale e del lobulo parietale superiore. Queste aree sono considerate parte integrante del "circuito di raggiungimento" (la fase di "trasporto", si veda Filimon et al., 2007). Questo circuito dorsale sia attiva con un elevato grado di sovrapposizione spaziale nelle condizioni di esecuzione, osservazione e immaginazione.

Negli adulti è già stata documentata la presenza di attivazioni corticali comuni nelle condizioni di esecuzione e osservazione di azioni, ma diverse da quelle che compongono il circuito Specchio ventrale (Gazzola e Keysers, 2009). Tra queste aree corticali è possibile identificare la corteccia premotoria dorsale, il lobulo parietale superiore, le cortecce somato-sensoriali primaria e secondaria e la corteccia medio temporale. Queste attivazioni corticali supplementari potrebbero arricchire e completare le informazioni fornite dal circuito Specchio "standard" (Rizzolatti e Sinigaglia, 2010). Quindi, i nostri dati forniscono la prima dimostrazione che anche nei bambini in età scolare, oltre al circuito Specchio costituito dalla corteccia premotoria ventrale e dal parietale inferiore, esiste un circuito piu' dorsale con proprieta' simili.

Infine, è importante sottolineare che questo è il primo studio EEG ad alta densità volto ad indagare le proprietà Specchio nei bambini condotto con l'ausilio di un modello di MNI pediatrico. L'introduzione di un modello pediatrico di MNI nella localizzazione delle sorgenti cerebrali ha permesso di avvicinarsi alla soluzione del così detto "problema inverso" con maggiore rigore e precisione (si veda, Michel et al., 2004.). Questo aspetto metodologico contribuisce ad indagare in termini assolutamente accurati la questione dell'analisi delle sorgenti cerebrali nello studio del MS in età evolutiva.

In sintesi, l'originalità' di questo studio consiste nel fatto che per la prima volta viene documentata nei bambini in età scolare l'esistenza di due differenti circuiti Specchio attivati dall'osservazione di atti motori di raggiungimento-afferramento rivolti verso un oggetto. L'attivazione di questi due circuiti è modulata nel tempo, in relazione alle diverse fasi

dell'atto motorio osservato, ed è anche influenzata dalla diponibilità di informazioni visive circa l'atto motorio osservato.

3. Conclusioni

Nella presente tesi sono state fornite diverse evidenze empiriche relative all'attivazione del MS in età scolare, investigando il paradigma che si ispira al lavoro di Umiltà et al. (2001).

Nel primo studio, indagando il ritmo alfa sensori-motorio, il MS è stato esplorato in una popolazione clinica e in una popolazione di bambini di controllo. I nostri risultati hanno mostrato che durante l'osservazione dell'atto motorio "Interamente Visibile", i bambini a ST presentano una soppressione dell'alfa sensori-motorio bilaterale, e che tale soppressione è più intensa durante l'osservazione del giocattolo nell'emisfero di destra. Entrambi gli atti motori osservati si sono dimostrati efficaci nell'indurre una soppressione sensori-motoria bilaterale. Ciò potrebbe indicare una codifica del MS sia del "che cosa", sia del "perché" (con una maggiore responsività dell'emisfero destro, alla visione di un giocattolo). Al contrario, nei bambini con DSA si è registrata una soppressione molto ridotta nell'emisfero destro durante l'osservazione dell'afferramento del giocattolo, e assente nell'emisfero sinistro durante l'osservazione dell'afferramento dell'oggetto neutro. Il pattern differente riportato nei bambini con DSA rispetto ai bambini a ST sembrerebbe in primo luogo ribadire una differente codifica del MS in relazione alla tipologia di oggetto afferrato. In secondo luogo, sembrerebbe indicare una compromissione specifica.

In questo studio è poi stata dimostrata una attivazione sensori-motoria anche alla visione di un atto motorio parzialmente "Oscurato".

Il confronto tra Condizioni ha poi evidenziato una maggiore entità di soppressione, in entrambi i gruppi di bambini, durante l'osservazione dell'azione "Interamente Visibile", in paragone all'atto motorio parzialmente "Oscurato". Rispetto a questo ultimo risultato abbiamo avanzato alcune ipotesi. Una prima possibile tesi interpretativa è che la Condizione "Interamente Visibile" possa rendere più esplicite le conseguenze sensoriali dell'azione osservata (ad esempio, l'interazione/contatto mano-oggetto), un'informazione chiaramente mancante nella Condizione "Oscurata. In conseguenza, la mancanza di questa informazione aggiuntiva determinerebbe la ridotta attivazione del MS. Questa ipotesi trova supporto in alcuni dati recenti sul MS nell'uomo che enfatizzano come la corteccia post-centrale debba

essere considerata parte integrante del circuito dei Neuroni Specchio (si veda, Keyzers et al., 2010; Arnstein et al., 2011).

In secondo luogo, ricordiamo che Umiltà et al. (2001) hanno dimostrato che solo il 50% dei Neuroni a Specchio testati nella corteccia premotoria del macaco rispondevano alla Condizione “Oscurata”. Per questo, i nostri risultati potrebbero anche dipendere da un numero minore di Neuroni Specchio attivati in questa Condizione.

L’analisi della “ripetizione per soppressione”, in cui non è stata individuata abitudine nel ritmo sensori-motorio, per entrambi i gruppi, ha poi dimostrato e ribadito che nei bambini con DSA ad alto funzionamento del nostro campione il MS presenta una certa funzionalità, supportando la tesi di una compromissione altamente specifica a livello del MS.

Il secondo studio è stato condotto su un campione di bambini e bambine a ST utilizzando la tecnica degli ERP, con relativa localizzazione delle sorgenti cerebrali. In questo secondo studio è stato possibile ottenere e documentare, con maggiore precisione, anche informazioni spaziali. I risultati hanno evidenziato l’attivazione di un circuito parieto-premotorio per entrambe la Condizione “Interamente Visibile” e per la Condizione “Oscurata”. Questo circuito è stato tradizionalmente descritto durante l’esecuzione o osservazione di un atto motorio di afferramento (si veda, Rizzolatti e Sinigaglia, 2010).

Rispetto alle dinamiche cerebrali che hanno luogo nel processo di comprensione dell’azione, in linea con il modello teorico proposto da Ortigue (et al. 2010), abbiamo ipotizzato che le attivazioni rilevate per la Condizione “Interamente Visibile”, soprattutto lateralizzate a sinistra, possano essere considerate come la conseguenza di una codifica predominante del "cosa" del MS, mostrando che anche nei bambini sia possibile ipotizzare che quando un atto motorio è “trasparente”, il MS codifichi l’atto motorio osservato come “afferrare”. In seguito, l’attivazione parieto-premotoria destra potrebbe in linea di principio sottendere il tentativo di individuare l’intenzione dell’atto motorio osservato. Tuttavia, data la mancanza nel nostro paradigma sperimentale di un “contesto”, questa rimane una mera speculazione. Un’ipotesi alternativa potrebbe essere che l’attivazione corticale di destra possa riflettere il modo in cui viene eseguita la presa dell’atto motorio osservato (il “come”).

Riguardo alla Condizione “Oscurata”, è stato osservato che le attivazioni differiscono da quelle registrate nella Condizione “Interamente Visibile” principalmente in due aspetti: in primo luogo, le fasi di raggiungimento/pre-modellamento della mano e quella di afferramento effettivo dell’oggetto producono sostanzialmente lo stesso tipo di attività corticale. In secondo luogo, l’attivazione della corteccia ventrale premotoria non si verifica mai nell’emisfero

destro. Per questo, abbiamo ipotizzato che la mancanza di informazioni visive sul “come” si realizza l’atto motorio di afferramento contribuisca alla scomparsa della attivazione premotoria di destra nella misura in cui la componente del “come” dell’atto motorio osservato non è disponibile all’osservatore.

Inoltre, è stato documentato che le attivazioni di questo circuito sembrano essere accompagnate da numerose altre attivazioni. Questo meccanismo non sembra dunque essere limitato alla corteccia premotoria ventrale e al lobo parietale inferiore. Alcune di queste attivazioni riguardano una parte dorsale della corteccia premotoria e il lobulo parietale superiore, aree che si pensa siano parte del così detto "circuito di raggiungimento" (si veda Filimon et al., 2007). Questo risultato ci ha indotto a parlare di circuiti parieto-premotori.

In linea conclusiva, rispetto ai nostri risultati, che cosa possiamo dunque sostenere sul MS in bambini in età scolare? In linea con Lephage e Théoret (2006), i risultati del primo lavoro, hanno illustrato che nei bambini a ST il MS presenta un modello di attivazione sensori-motorio alla visione di un atto motorio diretto ad uno scopo, simile a quello precedentemente descritto negli adulti (Muthukumarsamy et al., 2004; Steltsova et al., 2010). Infatti, abbiamo registrato una soppressione del ritmo sensori-motorio bilaterale, nei siti corticali dove tradizionalmente viene indicata e studiata. In questo primo studio, il dato sicuramente nuovo riguarda il ruolo della semantica dell’oggetto nel modulare l’attivazione del MS, dato che sembra trovare conferma dal modello di soppressione manifestato dai bambini con DSA. A nostra conoscenza, non esistono dati nella letteratura sugli adulti che documentino questa caratteristica del MS. Per questo, sarebbe interessante verificare con ulteriori studi se questo aspetto è una proprietà tipica di un meccanismo ancora immaturo o una proprietà presente in modo stabile.

Analogamente, la descrizione di circuiti parieto-premotori nei bambini ha illustrato proprietà simili rispetto a quelle che sono state indicate precedentemente in studi condotti su partecipanti adulti (si veda, Rizzolatti e Sinigaglia 2010), evidenziando alcune peculiarità rispetto alla temporizzazione delle relative attivazioni.

Entrambi gli studi hanno poi documentato l’attivazione del MS alla visione di una azione parzialmente “Oscurata”, dato fino ad ora documentato solo in bambini di pochi mesi (Southgate et al. 2010).

Infine, possiamo trarre alcune conclusioni comuni, derivate dalla convergenza dei risultati riportati nei due studi. In primo luogo, entrambi gli studi hanno mostrato che la Condizione “Interamente Visibile” sembra rivelarsi come la più efficace a livello di aree fronto-centrali.

Infatti, se da un lato il ritmo alfa sensori-motorio è ritenuto essere l'espressione di modulazioni principalmente di derivazione pre-motorie e somato-sensoriali (si veda, Pineda, 2005), allo stesso tempo nel secondo studio, solamente nella Condizione "Interamente Visibile" l'iniziale attivazione premotoria sinistra diventerà successivamente bilaterale.

Dal momento che, lo studio di frequenza e l'analisi degli ERP rappresentano due tipologie di analisi che risultano essere tra di loro complementari, l'ingente coinvolgimento delle aree premotorie riportato dalla localizzazione degli ERP potrebbe avere il pregio di confermare la derivazione dell'alfa sensori-motorio (registrata nel primo studio) da aree premotorie.

Infine, i risultati che abbiamo presentato in questi due studi non solo ci consentono di aggiungere nuove informazioni sul MS in età evolutiva, ma allo stesso tempo ci permettono di avanzare alcune considerazioni di ordine metodologico sulle potenzialità dell'EEG.

In questa tesi sono stati presentati due studi che si sono occupati di descrivere il MS con lo stesso paradigma, ma mediante due tecniche di analisi differenti: l'analisi di un ritmo di base e i potenziali evocati. Oggi la maggior parte delle ricerche che hanno descritto il MS in età evolutiva si sono focalizzate sul ritmo mu/alfa sensori-motorio. Tuttavia, lo studio dei potenziali evocati, oltre a fornire informazioni complementari all'indagine dell'attività di base, ha consentito di ottenere alcuni vantaggi e di sfruttare a pieno le potenzialità attuali di questa tecnica. In primo luogo, la risoluzione temporale è stata incrementata notevolmente e questo ci ha consentito di documentare le tempistiche di processamento nell'ordine di millisecondi; in secondo luogo, la maggior "agevolezza" nella risoluzione del così detto "problema inverso" per gli ERP (ad oggi esistono alcune difficoltà oggettive relative alla localizzazione dei ritmi (si veda Brunet et al., 2010) ha permesso di documentare accanto al dato temporale, informazioni spaziali.

Infine, nel secondo studio l'introduzione di un template di MNI pediatrico nella localizzazione delle sorgenti, in relazione alle premesse metodologiche riportate nell'introduzione della presente tesi (si veda, Michel et al., 2004) ha consentito di avvicinarsi al problema in "avanti" e dunque alla soluzione del "problema inverso", con maggiore rigore e precisione.

In conclusione, sembra ragionevole supporre che i progressi e le evoluzioni tecniche dell'EEG potranno grandemente contribuire al progresso delle conoscenze relative al MS.

4. Bibliografia

- Adolphs R, Sears L, Piven J. Abnormal processing of social information from faces in autism. *J Cogn Neurosci* 2001; **13**: 232–40.
- Altschuler E.L., Vankov A., Wang V., Ramachandran V.S., Pineda J.A., Person See, Person Do: Human Cortical Electrophysiological Correlates of Monkey See Monkey Do Cells, Poster Session Presented at the 27th Annual Meeting of the Society for Neuroscience, New Orleans, LA, 1997 (November).
- American Psychiatric Association. Task force on DSM-IV. Diagnostic and statistical manual of mental disorders: DSM-IV-TR (4th ed.) American Psychiatric Association, Washington, DC, 2000.
- Arnstein D, Cui F, Keyzers C, Maurits NM, Gazzola V. μ -suppression during action observation and execution correlates with BOLD in dorsal premotor, inferior parietal, and SI cortices. *J Neurosci*. 2011 Oct 5; **31**(40):14243-9.
- Ashwin C, Baron-Cohen S, Wheelwright S, O'Riordan M, Bullmore ET. Differential activation of the amygdala and the 'social brain' during fearful face-processing in Asperger Syndrome. *Neuropsychologia* 2007; **45**: 2–14.
- Baron-Cohen S, Leslie AM, Frith U. Does the autistic child have a 'theory of mind'? *Cognition* 1985; **21**: 37–46.
- Baron-Cohen S. Mindblindness: An Essay on Autism and Theory of Mind. Cambridge, MA: MIT Press, 1995.
- Baron-Cohen S, Ring HA, Wheelwright S, et al. Social intelligence in the normal and autistic brain: an fMRI study. *Eur J Neurosci* 1999; **11**: 1891–8.

- Baron-Cohen, S *The Essential Difference: men, women and the extreme male brain.* Penguin/Basic Books, 2003.
- Baron-Cohen S "Autism: the empathizing–systemizing (E-S) theory" (PDF). *Ann NY Acad Sci* 2009; **1156**: 68–80. doi:10.1111/j.1749-6632.2009.04467.x.PMID 19338503.
- Berger, H. Über das Elektroenkephalogramm des Menschen, *Arch. Psychiatr.* 1929, **87**: 527–570.
- Bernier R, Dawson G, Webb S, Murias M. EEG mu rhythm and imitation impairments in individuals with autism spectrum disorder. *Brain Cogn* 2007; **64**: 228–37.
- Bettelheim B. *Joey: a mechanical boy.* *Sci Am* 1959; **3**: 116–27.
- Bettelheim B. *The Empty Fortress: Infantile Autism and the Birth of the Self.* Glencoe: Free Press, 1976.
- Babiloni C, Babiloni F, Carducci F, Cincotti F, Coccozza G, Del Percio C, Moretti DV, Rossini PM. Human cortical electroencephalography (EEG) rhythms during the observation of simple aimless movements: a high-resolution EEG study. *Neuroimage.* 2002 Oct;**17**(2):559-72.
- Bird G, Leighton J, Press C, Heyes C. Intact automatic imitation of human and robot actions in autism spectrum disorders. *Proc Biol Sci* 2007; **274**: 3027–31.
- Bishop DVM. Pragmatic language impairment: a correlate of SLI, a distinct subgroup, or part of the autistic continuum? In Bishop DVM, Leonard LB, editors. *Speech and Language Impairments in Children: Causes, Characteristics, Intervention and Outcome.* Hove: Psychology Press, 2000.
- Brock J, Brown CC, Boucher J, Rippon G. The temporal binding deficit hypothesis of Autism. *Dev Psychopathol* 2002; **14**: 209–24.

- Brodbeck V, Spinelli L, Lascano AM, Wissmeier M, Vargas MI, Vulliemoz S, Pollo C, Schaller K, Michel CM, Seeck M. Electroencephalographic source imaging: a prospective study of 152 operated epileptic patients. *Brain*. 2011 Oct;**134**(Pt 10):2887-97.
- Brunet D, Murray MM, Michel CM. Spatiotemporal analysis of multichannel EEG: CARTOOL. *Comput Intell Neurosci*. 2011;2011:813870. Epub 2011 Jan 5.
- Bonini L., Ferrari P.F., Evolution of mirror systems: a simple mechanism for complex cognitive functions *Ann N Y Acad Sci*. Author manuscript; available in PMC 2012 April 1. Published in final edited form as: *Ann N Y Acad Sci*. 2011 April; **1225**(1): 166–175. doi: 10.1111/j.1749-6632.2011.06002.x
- Boria S, Fabbri-Destro M, Cattaneo L, et al. Intention understanding in autism. *PLoS One* 2009; **4**: 5596.
- Buccino G., Vogt S., Ritzl A., Fink G. R., Zilles K., Freund H. J., Rizzolatti G. 2004. Neural circuits underlying imitation learning of hand actions: an event-related fMRI study. *Neuron* **42**, 323–334 (doi:10.1016/S0896-6273(04)00181-3) [PubMed].
- Calvo-Merino B, Glaser DE, Grèzes J, Passingham RE, Haggard P. Action observation and acquired motor skills: an FMRI study with expert dancers. *Cereb Cortex*. 2005 Aug;**15**(8):1243-9.
- Calvo-Merino B, Grèzes J, Glaser D.E, Passingham R.E, Haggard P. Seeing or Doing? Influence of Visual and Motor Familiarity in Action Observation *Current Biology*, Volume **16**, Issue 22, 21 November 2006, Page 2277.
- Casile A, Caggiano V, Ferrari PF. The mirror neuron system: a fresh view. *Neuroscientist*. 2011 Oct;**17**(5):524-38. Epub 2011 Apr 5. Review.
- Castelli F. Understanding emotions from standardized facial expressions in autism and normal development. *Autism* 2005; **9**: 428–49.

- Castiello U, Becchio C, Zoia S, Nelini C, Sartori L, Blason L, D'Ottavio G, Bulgheroni M, Gallese V. Wired to be social: the ontogeny of human interaction. *PLoSOne*. 2010 Oct 7; **5**(10):e13199.
- Cattaneo L, Fabbi-Destro M, Boria S, et al. Impairment of actions chains in autism and its possible role in intention understanding. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; **104**: 17825–30.
- Celani G, Battacchi MW, Arcidiacono L. The understanding of the emotional meaning of facial expressions in people with autism. *J Autism Dev Disord* 1999; **29**: 57–66.
- Coben, R; Evans, J.R: Neurofeedback and Neuromodulation Techniques and Applications. Academic press, first edition, United Kingdom, 2011.
- Courchesne E, Carper R, Akshoomoff N. Evidence of brain overgrowth in the first year of life in autism. *JAMA* 2003; **290**: 337–44.
- Courchesne E, Pierce K. Brain overgrowth in autism during a critical time in development: implications for frontal pyramidal neuron and interneuron development and connectivity. *Int J Dev Neurosci* 2005; **23**: 153–70.
- Culham JC, Valyear KF. Human parietal cortex in action. *Curr Opin Neurobiol*. 2006 Apr; **16**(2):205-12. Review.
- Dapretto M, Davies MS, Pfeifer JH, Scott AA, Sigman M, Bookheimer SY, and Iacoboni M. Understanding emotions in others: mirror neuron dysfunction in children with Autism spectrum disorders. *Nat Neurosci* 2006; **9**: 28–30.
- Dawson G, Munson J, Webb SJ, Nalty T, Abbott R, Toth K. Rate of head growth decelerates and symptoms worsen in the second year of life in autism. *Biol Psychiatry* 2007; **61**: 458–64.
- De Feo M.R, Mecarelli O, 2001 Testo-Atlante di elettroencefalografia clinica, Ed. Marrapese.

- Desmedt JE, Tomberg C, Noel P, Ozaki I. Beware of the average reference in brain mapping (Review). *Electroencephalogr Clin Neurophysiol Suppl* 1990;**41**:22–7.
- Dias NS, Carmo JP, Mendes PM, Correia JH. Wireless instrumentation system based on dry electrodes for acquiring EEG signals. *Med Eng Phys*. 2012 Sep;**34**(7):972-81.
- Dinstein I. Human cortex: reflections of mirror neurons. *Curr Biol*. 2008; **18**(20):R956-9.
- Dushanova J, Donoghue J. Neurons in primary motor cortex engaged during action observation. *Eur J Neurosci*. 2010 Jan;**31**(2):386-98.
- Ebisch SJ, Gallese V, Willems RM, Mantini D, Groen WB, Romani GL, Buitelaar JK, Bekkering H. Altered intrinsic functional connectivity of anterior and posterior insula regions in high-functioning participants with autism spectrum disorder. *Hum Brain Mapp*. 2011 Jul;**32**(7):1013-28.
- Fadiga L, Fogassi L, Pavesi G, Rizzolatti G. Motor facilitation during action observation: a magnetic stimulation study. *J Neurophysiol* 1995; **73**: 2608–11.
- Fan YT, Decety J, Yang CY, Liu JL, Cheng Y. Unbroken mirror neurons in autism spectrum disorders. *J Child Psychol Psychiatry*. 2010; **51**(9):981-8.
- Filimon F, Nelson JD, Hagler DJ, Sereno MI. Human cortical representations for reaching: mirror neurons for execution, observation, and imagery. *Neuroimage*. 2007 Oct 1; **37**(4):1315-28.
- Fogassi L, Ferrari PF, Gesierich B, Rozzi S, Chersi F, Rizzolatti G. Parietal lobe: from action organization to intention understanding. *Science*. 2005 Apr 29;**308**(5722):662-7.
- Gallese V, Fadiga L, Fogassi L, Rizzolatti G. Action recognition in the premotor cortex. *Brain*. 1996; **119** (Pt 2):593-609.

- Gallese V, Lakoff G. The brain's concepts: the role of the sensory–motor system in reason and language. *Cogn Neuropsychol* 2005; **22**: 455–79.
- Gallese, V, Rochat, M., Cossu, G, Sinigaglia, C. Motor Cognition and its role in the phylogeny and ontogeny of intentional understanding. *Dev Psychol* 2009; **45**: 103-113.
- Gallese V., Sinigaglia C. What is so special with Embodied Simulation. *Trends Cogn Sci.* 2011 Nov;**15**(11):512-9. Epub 2011 Oct 7.
- Gallese V., Gernsbacher, M.A., Heyes, C., Hickock, G., and Iacoboni, M. Mirror neuron Forum. *Persp on Psych Sci.* 2011; **6**: 369-347.
- Gallese V., Rochat M.J. and Berchio C. The mirror mechanism and its potential role in the Autism Spectrum Disorder. *Dev Med Child Neurol.* 2012 Aug 28. doi: 10.1111/j.1469-8749.2012.04398.x.
- Gastaut, H., The epilepsies. Electro-clinical correlations, Springfield, Ill., 1954.
- Gastaut HJ, Bert J. EEG changes during cinematographic presentation. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 1954; **6**:433– 44
- Gencer NG, Williamson SJ, Guezic A, Hummel R. Optimal reference electrode selection for electric source imaging. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1996;**99**:163–73.
- Glenberg AM, Gallese V. Action-based language: a theory of language acquisition, comprehension, and production. *Cortex* 2012; **48**: 905–22.
- Golan O, Baron-Cohen S, Hill J. The Cambridge Mindreading (CAM) Face-Voice Battery: testing complex emotion recognition in adults with and without Asperger syndrome. *J Autism Dev Disord* 2006; **36**: 169–83.
- Grave de Peralta R, Gonzalez S, Lantz G, Michel CM, Landis T. Noninvasive localization of

- electromagnetic epileptic activity. Method descriptions and simulations. *Brain Topogr* 2001;**14**:131–7.
- Grossman JB, Klin A, Carter AS, Volkmar VF. Verbal bias in recognition of facial emotions in children with Asperger syndrome. *J Child Psychol Psychiatry* 2000; **41**: 369–79.
- Gunter TC, Bach P. Communicating hands: ERPs elicited by meaningful symbolic hand postures. *Neurosci Lett*. 2004 Nov 30;**372**(1-2):52-6.
- Hadjikhani N, Joseph RM, Snyder J, Tager-Flusberg H. Anatomical differences in the mirror neuron system and social cognition network in Autism. *Cereb Cortex* 2006; **16**: 1276–82.
- Happé F, Frith U. The neuropsychology of autism. *Brain* 1996; **19**: 1377–400.
- Hobson RP, Meyer JA. Imitation, identification, and the shaping of mind: insights from autism. In Rogers SJ, Williams JHG, editors. *Imitation and the Social Mind: Autism and Typical Development*. New York: Guilford Press, 2006.
- Iacoboni M, Woods RP, Brass M, Bekkering H, Mazziotta JC, Rizzolatti G. 1999. Cortical Mechanisms of human imitation. *Science* **286**:2526–28.
- Iacoboni, M, Molnar-Szakacs, I, Gallese, V, Buccino G, Mazziotta J, and Rizzolatti G. Grasping the intentions of others with one's own mirror neuron system. *PLOS Biology* 2005; **3**: 529-535.
- Fonov VS, Evans AC, McKinstry RC, Almlí CR and Collins DL Unbiased nonlinear average age-appropriate brain templates from birth to adulthood *NeuroImage*; **47**, Supplement 1, 2009, Page S102 Organization for Human Brain Mapping 2009 Annual Meeting, DOI: 10.1016/S1053-8119(09)70884-5
- Fonov VS, Evans AC, Botteron K, Almlí CR, McKinstry RC, Collins DL and BDCG,

Unbiased average age-appropriate atlases for pediatric studies, *NeuroImage*, In Press, ISSN 1053–8119, DOI: 10.1016/j.neuroimage.2010.07.033

- Jasper, H. H., Kershman, J., Classification of the EEG in epilepsy, in *Electroencephalography and clinical neurophysiology*, 1949, suppl. 2, pp. 123-131.
- Junghöfer M, Elbert T, Tucker DM, Braun C. The polar average reference effect: a bias in estimating the head surface integral in EEG recording. *Clin Neurophysiol* 1999;**110**:1149–55.
- Jou RJ, Jackowski AP, Papademetris X, Rajeevan N, Staib LH, Volkmar FR. Diffusion tensor imaging in autism spectrum disorders: preliminary evidence of abnormal neural connectivity. *Aust N Z J Psychiatry* 2011; **45**: 153–62.
- Keysers C, Kaas JH, Gazzola V. Somatosensation in social perception. *Nat Rev Neurosci*. 2010 Jun;**11**(6):417-28. doi: 10.1038/nrn2833. Epub 2010 May 6. Review.
- Kohler E, Keysers C, Umiltà M A, Fogassi L, Gallese V, Rizzolatti G. Hearing sounds, understanding actions: action representation in mirror neurons. *Science*. 2002 Aug 2;**297**(5582):846–848.
- Koski L., Wohlschlagel A., Bekkering H., Woods R. P., Dubeau M. C., Mazziotta J. C., Iacoboni M. 2002. Modulation of motor and premotor activity during imitation of target-directed actions. *Cereb. Cortex* **12**, 847–855 (doi:10.1093/cercor/12.8.847) [PubMed]
- Kuhlman WN. Functional topography of the human mu rhythm. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*. 1978 Jan;**44**(1):83-93.
- Leary MR, Hill DA. Moving on: Autism and movement disturbance. *Ment Retard* 1996; **34**: 39–53.
- Lepage JF, Théoret H. EEG evidence for the presence of an action observation-execution

matching system in children. *Eur J Neurosci*. 2006 May;**23**(9):2505-10.

Lord C, Risi S, Lambrecht L, Cook EH Jr, Leventhal BL, DiLavore PC, Pickles A, Rutter M. The autism diagnostic observation schedule-generic: a standard measure of social and communication deficits associated with the spectrum of autism. *J Autism Dev Disord*. 2000 Jun;**30**(3):205-23.

Lord C, Rutter M, Le Couteur A. Autism Diagnostic Interview-Revised: a revised version of a diagnostic interview for caregivers of individuals with possible pervasive developmental disorders. *J Autism Dev Disord*. 1994; **24**(5):659-85.

Marshall PJ, Meltzoff AN. Neural mirroring systems: exploring the EEG mu rhythm in human infancy. *Dev Cogn Neurosci*. 2011 Apr;**1**(2):110-23. Review.

Martineau J, Cochin S, Magne R, Barthelemy C. Impaired cortical activation in autistic children: is the mirror neuron system involved? *Int J Psychophysiol* 2008; **68**: 35–40.

Meltzoff AN, Moore MK. Imitation of facial and manual gestures by human neonates. *Science*. 1977 Oct 7;**198**(4312):74-8.

Meltzoff AN, Moore MK. Newborn infants imitate adult facial gestures. *Child Dev*. 1983 Jun; **54**(3):702-9.

Meltzoff A, Gopnik A. The role of imitation in understanding persons and developing a theory of mind. In Baron-Cohen S, Tager-Flusberg H, Cohen DJ, editors. *Understanding Other Minds: Perspectives from Autism*. London: Oxford University Press, 1993.

Minshew NJ, Williams DL. The new neurobiology of autism: cortex, connectivity, and neuronal organization. *Arch Neurol* 2007; 64: 945–50. (Erratum in *Arch Neurol* 2007; **64**: 1464.

Michel CM, Murray MM, Lantz G, Gonzalez S, Spinelli L, Grave de Peralta R. EEG source

- imaging. *Clin Neurophysiol.* 2004 Oct;**115**(10):2195-222. Review.
- Michel CM, Murray MM. Towards the utilization of EEG as a brain imaging tool. *Neuroimage.* 2012 Jun;**61**(2):371-85. Epub 2011 Dec 28. Review.
- Molenberghs P, Cunnington R, Mattingley JB. Brain regions with mirror properties: a meta-analysis of 125 human fMRI studies. *Neurosci Biobehav Rev.* 2012 Jan;**36**(1):341-9.
- Mostofsky SH, Dubey P, Jerath VK, Janciewicz EM, Goldberg MC, Denckla MB. Developmental dyspraxia is not limited to imitation in children with autism spectrum disorders. *J Int Neuropsychol Soc* 2006; **12**: 314–26.
- Müller T, Ball T, Kristeva-Feige R, Mergner T, Timmer J. Selecting relevant electrode positions for classification tasks based on the electro-encephalogram. *Med Biol Eng Comput.* 2000; **38**(1):62-7.
- Muthukumaraswamy SD, Johnson BW. Changes in rolandic mu rhythm during observation of a precision grip. *Psychophysiology.* 2004;**41**:152–156. [PubMed]
- Muthukumaraswamy SD, Johnson BW, McNair NA. Mu rhythm modulation during observation of an object-directed grasp. *Brain Res Cogn Brain Res.* 2004;**19**:195–201.
- Nishitani N, Avikainen S, Hari R. Abnormal imitation-related cortical activation sequences in Asperger's syndrome. *Ann Neurol* 2004; **55**: 558–62.
- Noterdaeme M, Mildemberger K, Minow F, Amorosa H. Evaluation of neuromotor deficits in children with autism and children with a specific speech and language disorder. *Eur Child Adolesc Psychiatry* 2002; **11**: 219–25.
- Nyström P. The infant mirror neuron system studied with high density EEG. *Soc Neurosci.* 2008;**3**:334–347. [PubMed]
- Nyström P, Ljunghammar T, Rosander K, von Hofsten C. Using mu rhythm perturbations to

measure mirror neuron activity in infants. *Dev Sci*. 2010 doi: 10.1111/j.1467-7687.2010.00979.x.

Oberman LM, Hubbard EM, McCleery JP, Altschuler EL, Ramachandran VS, and Pineda JA. EEG evidence for mirror neuron dysfunction in Autism spectrum disorders. *Brain Res. Cogn*. 2005; **24**:190–198.

Oberman LM, Pineda JA, Ramachandran VS. The human mirror neuron system: a link between action observation and social skills. *Soc Cogn Affect Neurosci*. 2007 Mar;**2**(1):62-6.

Oberman LM, Ramachandran VS, Pineda JA. Modulation of mu suppression in children with Autism spectrum disorders in response to familiar or unfamiliar stimuli: the mirror neuron hypothesis. *Neuropsychologia* 2008; **46**(5):1558-65.

Ortigue, S., Sinigaglia, C., Rizzolatti, G., Grafton, ST, 2010 Understanding Actions of Others: The Electrodynamics of the Left and Right Hemispheres. A High-Density EEG Neuroimaging Study *PLoS One*. **5**(8): e12160.

Pascual-Marqui RD, Lehmann D. Comparison of topographic maps and the reference electrode: comments on two papers by Desmedt and collaborators. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1993;**88**(530/531):534–6.

Pennington BF, Ozonoff S. Executive functions and developmental psychopathology. *J Child Psychol Psychiatry*. 1996 Jan;**37**(1):51-87. Review.

Perry A, Bentin S. Mirror activity in the human brain while observing hand movements: a comparison between EEG desynchronization in the mu-range and previous fMRI results. *Brain Res*. 2009 Jul **28**;1282:126-32.

Pfurtscheller G, Aranibar A. Event-related cortical desynchronization detected by power measurements of scalp EEG. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*. 1977 Jun;**42**(6):817-26.

- Pfurtscheller G. Graphical display and statistical evaluation of event-related desynchronization (ERD). *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 1977 Nov;**43**(5):757-60.
- Pfurtscheller G, Lopes da Silva FH. Event-related EEG/MEG synchronization and desynchronization: basic principles. *Clin Neurophysiol.* 1999 Nov;**110**(11):1842-57. Review.
- Pineda JA. The functional significance of mu rhythms: Translating “seeing” and “hearing” into “doing” *Brain Res Rev.* 2005;**50**:57–68.
- Proverbio AM, Riva F. RP and N400 ERP components reflect semantic violations in visual processing of human actions. *Neurosci Lett.* 2009 Aug 14;**459**(3):142-6.
- Raymaekers R, Wiersema JR, Roeyers H. EEG study of the mirror neuron system in children with high functioning autism. *Brain Res.* 2009;1304:113-21.
- Ramachandran VS, Oberman LM. Broken mirrors: a theory of autism. *Sci Am* 2006; **295**: 62–9.
- Reid, V.M., Striano, T. N400 involvement in the processing of action sequences, *Neurosci Lett* 2008, **433**, 93-97.
- Reid VM, Striano T, Iacoboni M. Neural correlates of dyadic interaction during infancy. *Dev Cogn Neurosci.* 2011 Apr;**1**(2):124-30.
- Rizzolatti G, Fadiga L, Gallese V, Fogassi L. Premotor cortex and the recognition of motor actions. *Cogn Brain Res* 1996; **3**(2):131-41.
- Rizzolatti G, Arbib MA. Language within our grasp. *Trends Neurosci* 1998; **21**: 188–94.
- Rizzolatti G. The mirror neuron system and its function in humans. *Anat Embryol* 2005; **210**:

419–21.

Rizzolatti G., Sinigaglia C. *So quel che fai, Il cervello che agisce e i neuroni specchio*, Raffaello Cortina Editore. 2006.

Rizzolatti, G. & Fabbri-Destro, M. The mirror system and its role in social cognition. *Curr Opin. Neurobiol.* **18**, 179–184 (2008).

Rizzolatti G, Sinigaglia C. The functional role of the parieto-frontal mirror circuit: interpretations and misinterpretations. *Nat Rev Neurosci* 2010;**11**(4):264-74. Review.

Rogers SJ, Pennington BF. A theoretical approach to the deficits in infantile autism. *Dev Psychopathol* 1991; **3**: 137–62.

Rogers SJ, Bennetto L, McEvoy R, Pennington BF. Imitation and pantomime in high-functioning adolescents with autism spectrum disorders. *Child Dev* 1996; **67**: 2060–73.

Rogers SJ, Hepburn SL, Stackhouse T, Wehner E. Imitation performance in toddlers with autism and those with other developmental disorders. *J Child Psychol Psychiatry* 2003; **44**: 763–81.

Shibata H, Gyoba J, Suzuki Y. Event-related potentials during the evaluation of the appropriateness of cooperative actions. *Neurosci Lett.* 2009 Mar 13;**452**(2):189-93.

Shumway S, Wetherly AM. Communicative acts of children with autism spectrum disorders in the second year of life. *J Speech Lang Hear Res* 2009; **52**: 1139–56.

Smith IM, Bryson SE. Imitation and action in autism: a critical review. *Psychol Bull* 1994; **116**: 259–73.

Sommerville JA, Woodward AL. Pulling out the intentional structure of action: the relation

- between action processing and action production in infancy. *Cognition* 2005; **95**(1):1-30.
- Sommerville JA, Woodward AL, Needham A. Action experience alters 3-month-old infants' perception of others' actions. *Cognition* 2005; **96**(1):B1-11.
- Southgate V, Johnson MH, Osborne T, Csibra G. Predictive motor activation during action observation in human infants. *Biol Lett.* 2009;**5**:769–772.
- Southgate V, Johnson MH, El Karoui I, Csibra G. Motor system activation reveals infants' on-line prediction of others' goals. *Psychol Sci.* 2010 Mar;**21**(3):355-9.
- Spinelli L, Andino SG, Lantz G, Seeck M, Michel CM. Electromagnetic inverse solutions in anatomically constrained spherical head models. *Brain Topogr.* 2000 Winter; **13**(2):115-25.
- Streltsova A, Berchio C, Gallese V, Umiltà MA. Time course and specificity of sensory-motor alpha modulation during the observation of hand motor acts and gestures: a high density EEG study. *Exp Brain Res* 2010; **205**: 363–73.
- Tomberg C, Noel P, Ozaki I, Desmedt JE. Inadequacy of the average reference for the topographic mapping of focal enhancements of brain potentials. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1990;**77**: 259–65.
- Umiltà, M.A. , Kohler, E, Gallese, V., Fogassi, L., Fadiga, L., Keysers, C., Rizzolatti, G. “I know what you are doing”: a neurophysiological study, *Neuron*, 2001, **32**: 91–101.
- Umiltà MA, Berchio C, Sestito M, Freedberg D, Gallese V. Abstract art and cortical motor activation: an EEG study. *Front Hum Neurosci.* 2012;**6**:311.
- van Elk M, van Schie HT, Hunnius S, Vesper C, Bekkering H. You'll never crawl alone: neurophysiological evidence for experience-dependent motor resonance in infancy. *Neuroimage* 2008, **43**(4):808-14.

Wechsler, D. WISC-III: Wechsler intelligence scale for children, New York, The Psychological Corporation, 1991.

Williams JH, Waiter GD, Gilchrist A, Perrett DI, Murray AD, Whiten A. Neural mechanisms of imitation and 'mirror neuron' functioning in autistic spectrum disorder. *Neuropsychologia* 2006; **44**: 610–21.

Wohlschläger A, Bekkering H. Is human imitation based on a mirror-neurone system? Some behavioural evidence. *Exp Brain Res.* 2002 Apr; **143**(3):335-41. Epub 2002 Jan 31.

Woodward AL. Infants selectively encode the goal object of an actor's reach. *Cognition* 1998; **69**(1):1-34.

Zoia S, Blason L, D'Ottavio G, Bulgheroni M, Pezzetta E, Scabar A, Castiello U. Evidence of early development of action planning in the human foetus: a kinematic study. *Exp Brain Res.* 2007 Jan; **176**(2):217-26.

Citazioni Web:

Caton, Richard (1875), British Medical Journal
http://en.wikipedia.org/wiki/Richard_Caton
(20/12/2012)

The MNI brain and the Talairach atlas
<http://imaging.mrc-cbu.cam.ac.uk/imaging/MniTalairach>
(20/12/2012).

American Psychiatric Association, (2011), Autism Spectrum Disorder, DSM-V Development.
<http://www.dsm5.org/Pages/Default.aspx>
(20/12/2012).