



SAPIENZA
UNIVERSITÀ DI ROMA

FACOLTÀ DI MEDICINA E PSICOLOGIA

**XXXII Ciclo di Dottorato di Ricerca in
“Psicologia e Scienza Cognitiva”**

Tesi di Dottorato

**MODULAZIONE DEI LIVELLI DI SONNOLENZA E
VIGILANZA MEDIANTE STIMOLAZIONE ELETTRICA
TRANSCRANICA (*transcranial Electrical Stimulation, tES*)**

Dottoranda: Dott.ssa Valentina Alfonsi

Tutor: Prof. Luigi De Gennaro

Co-tutor: Prof. Fabio Ferlazzo

INDICE

INTRODUZIONE	4
CAPITOLO 1. FENOMENOLOGIA DEL CONTINUUM VEGLIA-SONNO	6
1.1 Meccanismi neurobiologici della veglia e del sonno	7
1.2 Elettrofisiologia della transizione veglia-sonno	10
1.2.1 Ritmi corticali: dalla veglia attiva al sonno profondo	10
1.2.2 Variazioni spazio-temporali in addormentamento	13
1.3 Aspetti psicofisiologici della sonnolenza e della vigilanza	18
1.3.1 Definizione dei costrutti	18
1.3.2 Misure di sonnolenza e vigilanza	21
1.3.3 Disturbi correlati ad Eccessiva Sonnolenza Diurna	26
CAPITOLO 2. STIMOLAZIONE ELETTRICA TRANSCRANICA: EFFETTI MODULATORI SULL'ELETTROFISIOLOGIA CORTICALE SPONTANEA	29
2.1 La tecnica e i protocolli di ricerca	30
2.1.1 Principi di funzionamento e tipologie di tES	30
2.1.2 Effetti della tES su funzioni cognitive, motorie e sensoriali	37
2.2 tES e modulazione del sonno	48
2.3 tES e modulazione di sonnolenza e vigilanza	56
CAPITOLO 3. LA RICERCA	61
3.1 Introduzione	61
3.2 Metodo	63
3.2.1 Soggetti	63
3.2.2 Materiali	63
3.2.3 Procedura	69
3.2.4 Analisi dei dati	72
3.3 Risultati	73
3.3.1 Effetti del protocollo tDCS su differenti indici di sonnolenza	73
3.3.2 Correlazione tra effetti riscontrati su differenti indici di sonnolenza	80
3.4 Discussione	82

CONCLUSIONI 87

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI 89

INTRODUZIONE

Da un punto di vista elettrofisiologico, il funzionamento cerebrale è determinato dall'attività bioelettrica endogena delle cellule neuronali, visivamente rappresentata dai segnali elettroencefalografici (EEG). L'eventuale influsso di attività elettrica esterna è in grado di interagire con tali meccanismi, attraverso l'induzione di una perturbazione dell'attività EEG spontanea.

Le metodiche di stimolazione transcranica non-invasiva (elettrica e magnetica) sono note e utilizzate da molti anni. I loro effetti sono basati sulle potenzialità plastiche del sistema nervoso e possono risultare variabilmente localizzati e duraturi nel tempo.

Nella seguente trattazione verrà fatto prevalentemente riferimento alle tecniche di stimolazione elettrica transcranica in corrente continua (*transcranial Direct Current Stimulation*, tDCS) e alternata (*transcranial Alternating Current Stimulation*, tACS).

Le due tipologie di erogazione della corrente sono in grado di sortire i loro effetti attraverso diversificati meccanismi neurobiologici: mentre la tDCS agisce mediante la polarizzazione del tessuto corticale stimolato, facilitando o riducendo l'eccitabilità della corrispondente area, la tACS ha suscitato grande interesse per la sua ipotetica capacità di modulare l'attività oscillatoria cerebrale e i processi fisiologici e cognitivi correlati.

Sebbene l'applicazione di tali metodiche sia stata ampiamente utilizzata nell'ambito delle funzioni cognitive, motorie e percettive, l'esplorazione dei loro effetti nel campo della ricerca sul sonno ha suscitato un interesse relativamente recente. In tale contesto, la possibilità di indurre alterazioni dei livelli di *arousal* corticale e/o cambiamenti frequenza-specifici dei ritmi EEG è finalizzata alla modulazione di differenti stati di attivazione psicofisiologica via circuiti di *feedback* cortico-talamo-corticali.

Nei primi due capitoli del presente elaborato verrà offerta una panoramica delle evidenze scientifiche passate ed attuali, in base alle quali è stato ideato lo studio empirico descritto nel terzo ed ultimo capitolo. Più dettagliatamente, all'interno del **primo capitolo** verranno sinteticamente introdotti i principali meccanismi neurali alla base del sonno e della veglia ed in seguito descritte le risultanti dinamiche elettrofisiologiche caratteristiche del continuum sonno-veglia. Un ulteriore approfondimento verrà condotto in merito alla definizione e all'inquadramento di due costrutti in stretta relazione con il sonno, ovvero la vigilanza e la sonnolenza. Nel **secondo capitolo**, verranno inizialmente descritti i principi di funzionamento e le opportunità conoscitive e terapeutiche offerte dalle tecniche di stimolazione elettrica transcranica. Successivamente, verranno passati in rassegna gli studi

relativi agli effetti dell'applicazione di tali tecniche, con particolare riferimento all'ambito del sonno e dei costrutti di vigilanza e sonnolenza.

Nell'ultima sezione dell'elaborato (**terzo capitolo**) verranno descritti ipotesi, metodi e risultati dello studio empirico oggetto del presente lavoro di tesi. L'obiettivo di tale studio è stato quello di verificare l'efficacia di un protocollo di stimolazione tDCS nell'indurre una riduzione dei livelli sonnolenza (oggettivi e soggettivi), sfruttando le conoscenze consolidate sulla relazione diretta tra desincronizzazione dell'attività EEG e livelli di vigilanza.

CAPITOLO 1. FENOMENOLOGIA DEL CONTINUUM VEGLIA-SONNO

L'esistenza umana è scandita dall'alternarsi ciclico tra differenti stati di coscienza, finemente orchestrati da appositi circuiti neurali interagenti con fattori ambientali e fattori endogeni.

Veglia, sonno profondo (*Non Rapid Eye Movement*, NREM) e “sonno paradossale” (*Rapid Eye Movement*, REM) definiscono le tre principali tipologie di stati di coscienza.

Il passaggio da una concezione categoriale (presenza o assenza di coscienza) ad una dimensionale (continuum veglia-sonno) è avvenuto in seguito ad una serie di studi empirici, resi possibili grazie all'introduzione da parte del neurologo tedesco Hans Berger (fine anni '20) della principale metodica di osservazione dell'attività bioelettrica cerebrale: l'elettroencefalografia (EEG).

Gli studi pionieristici condotti da Bremer (1935) su diverse sezioni cerebrali del gatto mostrarono che lesioni prodotte a livello mesencefalico (“cervello isolato”) interrompevano il susseguirsi ciclico di veglia e sonno, provocando uno stato comportamentale e fisiologico irreversibile simil-sonno, contrariamente a quanto osservato a seguito di lesioni a livello del midollo spinale (“encefalo isolato”). Bremer interpretò tali risultati sulla base del differente coinvolgimento delle afferenze sensoriali derivanti dai nervi cranici, recise nel preparato “cervello isolato” e mantenute intatte nel preparato “encefalo isolato”. Coerentemente con la “teoria della deafferentazione”, sostenuta da Kleitman in quegli stessi anni, tali evidenze rappresentavano la prima testimonianza empirica del sonno inteso come naturale conseguenza dell'interruzione degli scambi sensoriali con il mondo esterno.

La visione del sonno come fenomeno passivo, indotto da deafferentazione sensoriale e funzionale, ha dominato il panorama scientifico della ricerca sul sonno fino alla metà del secolo scorso. Una svolta decisiva è stata introdotta a seguito degli studi approfonditi condotti da Moruzzi e Magoun (1949) sui circuiti funzionali del tronco encefalico. Essi individuarono l'esistenza di una porzione encefalica (formazione reticolare) situata tra i due livelli lesionati da Bremer, la quale era in grado di produrre configurazioni EEG tipiche della veglia se attivamente stimolata. Inoltre, diversi anni prima, studi con stimolazioni elettriche localizzate (Hess, 1927) ed esperimenti condotti su pazienti con encefalite letargica (von Economo, 1929) avevano dimostrato l'esistenza di centri ipnagogici situati nel tronco encefalico, contribuendo a delineare una concezione di sonno come processo attivo.

A partire dalla formulazione della “teoria reticolare”, studi sempre più avanzati si sono susseguiti nel tentativo di individuare gli specifici circuiti anatomo-funzionali implicati nell’induzione e nel mantenimento dei diversi stati di coscienza (**cf. par. 1.1**). Ad oggi, sebbene sia appurato che il sonno rappresenti un bisogno fisiologico primario e vitale per l’uomo e per molte altre specie viventi, non risultano ancora del tutto chiari i meccanismi alla base e le sue specifiche funzioni.

Al di là della visione tripartita degli stati di coscienza (veglia, sonno NREM, sonno REM), i nostri stati cerebrali variano costantemente tra diverse condizioni: da una piena consapevolezza e vigilanza, a condizioni di disattenzione, noia, sonnolenza, assopimento ed infine al sonno. Negli ultimi anni la ricerca ha diretto il suo interesse allo studio di quei fenomeni transitori o misti situati nel “territorio di confine” tra la veglia e il sonno. Fasi di passaggio di stato come il risveglio o l’addormentamento (**cf. par 1.2**), o costrutti psicofisiologici intermedi quali sonnolenza e vigilanza (**cf. par 1.3**), possono infatti contribuire a definire meglio le complesse dinamiche alla base della regolazione fisiologica dei diversi stati di coscienza e la loro interazione con fattori esogeni ed endogeni. Con le moderne metodiche di indagine risulta dunque possibile considerare il sonno e la veglia secondo una naturale logica di continuità e complementarità, superando l’arbitraria concezione di una netta separazione tra i due stati fisiologici.

1.1 Meccanismi neurobiologici della veglia e del sonno

A partire dagli studi pionieristici di Moruzzi e Megoun (1949) si giunse alla formulazione del concetto di sistema reticolare attivatore ascendente (*Ascending Reticular Activating System*, ARAS), ovvero di un complesso reticolo di fibre nervose che a partire dal tronco encefalico proietta verso la corteccia cerebrale attraverso due distinte vie (Saper et al., 2001):

- Via dorsale: dai neuroni glutamatergici (formazione reticolare) e da quelli acetilcolinergici (nucleo tegmentale peduncolo-pontino, nucleo tegmentale latero-dorsale) al talamo e in seguito alla corteccia.
- Via ventrale: dai neuroni glutamatergici (formazione reticolare), noradrenergici (*locus coeruleus*), serotoninergici (nucleo del rafe dorso-mediale), dopaminegici (grigio periacquoduttale) e istaminergici (nucleo tuberomammillare) all’ipotalamo laterale, proencefalo basale e corteccia.

Le connessioni dei molteplici sistemi neurotrasmettitoriali contenuti nei nuclei troncoencefalici con strutture cerebrali superiori risultano essenziali nella promozione di differenti stati di *arousal* corticale. Tali popolazioni neuronali presentano una differente frequenza di scarica in funzione dello specifico stato fisiologico. In particolare, un elevato tasso di scarica si manifesta durante lo stato veglia, contrariamente a quando osservato in sonno (Fuller et al., 2006).

Ciascun sistema neurotrasmettitoriale apporta un contributo specifico, sebbene non essenziale, al mantenimento dello stato di veglia: tale ridondanza assicura la massima efficienza del sistema di attivazione corticale. L'acetilcolina, attraverso connessioni dirette e indirette con i neuroni piramidali corticali, esercita un potente effetto attivante sulla corteccia cerebrale, contribuendo alla genesi di ritmi EEG rapidi e desincronizzati tipici dello stato di veglia (Duque et al., 2000; Lee et al., 2005). La noradrenalina, centrale nella realizzazione di risposte di tipo *flight-or-flight*, risulta particolarmente importante nel mantenimento di uno stato di vigilanza in situazioni stressanti, oltre che nella permanenza di tonicità muscolare (Cirelli et al., 1996; Rasmussen et al., 1986). La serotonina, diversamente dagli altri sistemi di *arousal*, è principalmente implicata nella promozione di stati di veglia rilassata, mentre il suo tasso di scarica risulta ridotto in condizioni di veglia attiva (Jacobs & Fornal, 1991). I farmaci basati sull'incremento della concentrazione di dopamina nello spazio intersinaptico rappresentano le sostanze psicoattivanti maggiormente efficaci nella riduzione di livelli eccessivi di sonnolenza diurna (Boutrel & Koob, 2004). Infine, l'aumento dei livelli di sonnolenza osservato collateralmente all'assunzione dei più comuni farmaci antistaminici, costituisce una chiara dimostrazione del contributo dell'istamina nella regolazione dello stato di veglia (Brown, 2001; White & Rumbold, 1988).

In aggiunta ai circuiti descritti, ulteriori *drivers* esterni agiscono sui sistemi di veglia e di sonno, principalmente rappresentati dalle molecole orexina e adenosina.

L'orexina (o ipocretina), neuropeptide secreto dall'ipotalamo laterale, ricopre un'importante funzione di mantenimento dello stato di veglia mediante la sua azione eccitatoria sui principali nuclei tronco-encefalici facenti parte dell'ARAS: formazione reticolare, *locus coeruleus*, nucleo del rafe, nucleo tuberomammillare (Chemelli et al., 1999; Chou et al., 2001). Tale azione eccitatoria può essere innescata da diversi *input* interni o esterni richiedenti uno stato di attivazione, quali ad esempio fame, fase circadiana e motivazione a restare svegli.

Un ruolo speculare è svolto dal nucleoside adenosina, la cui concentrazione si accumula progressivamente durante la veglia in risposta al dispendio energetico prodotto dal metabolismo, per poi diminuire nuovamente durante il sonno (Porkka-Heiskanen et al., 1997). Agendo da regolatore omeostatico, una volta raggiunti livelli elevati, causa un incremento di sonnolenza a seguito della sua azione inibitoria sulle regioni attivanti del proencefalo basale ed eccitatoria indiretta sui centri ipnagogici (Strecker et al., 2000). La caffeina, ovvero la sostanza psicoattivante più comunemente utilizzata, rappresenta un'antagonista di tale molecola.

Ulteriori fattori quali la presenza di alcune condizioni psicopatologiche (es. ansia e stress), l'assunzione di particolari sostanze (es. cocaina, amfetamina) o l'esecuzione di strategie terapeutiche mirate (es. *biofeedback*, meditazione) possono interferire con il naturale funzionamento di tali circuiti, comportando una sovra- o sotto-regolazione dell'ARAS.

Come descritto in precedenza, il sonno non è semplicemente l'esito di un'interruzione del flusso di informazioni provenienti dal mondo esterno, ma il risultato dell'attivazione di appositi circuiti cerebrali che avviano la discesa attraverso i differenti stadi di sonno.

I sistemi promotori del sonno sono collocati all'interno dell'area preottica dell'ipotalamo e in particolare nel nucleo preottico ventrolaterale (*Ventrolateral Preoptic Nucleus*, VLPO) e nell'area preottica mediana (*Median Preoptic Nucleus*, MnPO). Diversi studi hanno dimostrato la soppressione di sonno NREM e REM a seguito di lesioni localizzate in queste strutture (Ko et al., 2003; Lu et al., 2000; McGinty & Serman, 1968).

Le popolazioni neuronali all'interno del nucleo VLPO vengono normalmente inibite dall'attività del sistema reticolare attivatore ascendente (Chou et al., 2002). A sua volta, le proiezioni GABAergiche e galaninerghiche inibitorie contenuti nel nucleo VLPO e nell'area MnPO sopprimono i sistemi neurotrasmettitoriali colinergici e aminergici promotori della veglia (Gaus et al., 2002).

Tale meccanismo di reciproca inibizione, in cui ciascuna metà del sistema inibisce fortemente l'altra, è definito circuito "*flip-flop*", il cui funzionamento è basato sul rapido passaggio da uno stato all'altro allo scopo di ridurre al minimo il numero di transizioni tra la veglia e sonno e assicurare il mantenimento di pattern definiti e stabili.

Un ruolo chiave nel passaggio dal sonno alla veglia e viceversa è svolto dalla molecola orexina, la quale, come descritto in precedenza, mediante connessioni dirette e indirette con entrambi i sistemi favorisce l'attivazione delle componenti dell'ARAS e contemporaneamente mantiene l'inibizione del nucleo VLPO. Viceversa, sostanze neurochimiche come adenosina, prostaglandine o citochine, che si accumulano

progressivamente nel corso della veglia, determinano l'attivazione dei sistemi deputati al sonno.

Un ulteriore componente fondamentale coinvolto nella regolazione dell'alternanza sonno-veglia è costituito dal nucleo sovrachiasmatico (*Suprachiasmatic Nucleus*, SCN) dell'ipotalamo. Questa struttura rappresenta una sorta di *pacemaker* circadiano in grado di sincronizzare il ciclo sonno-veglia al ciclo luce-buio, sulla base della stimolazione luminosa proveniente dalla retina (durante il giorno) e della secrezione ipofisaria di melatonina (durante la notte) (Deurveilher & Semba, 2003).

Dopo circa 60 minuti dall'addormentamento, dal sonno profondo (NREM) segue una transizione verso il sonno REM, caratterizzato da attività elettrofisiologica simile alla veglia, e per questo definito sonno paradossale. Un meccanismo bistabile simile a quello coinvolto nello *switching* tra veglia e sonno controlla anche il passaggio da sonno NREM a sonno REM e viceversa. Secondo il modello di interazione reciproca proposto da McCarley e Hobson (1975), durante la veglia si verifica l'inibizione dei neuroni colinergici a seguito del rilascio dei neurotrasmettitori aminergici (serotonina e noradrenalina). L'attivazione dei circuiti colinergici tenderebbe ad incrementare gradualmente in corrispondenza dell'inizio del sonno NREM, associato ad una riduzione dei livelli serotoninergici e noradrenergici. Il picco massimo di acetilcolina coincide dunque con l'insorgenza della fase REM (massima inibizione dei neuroni aminergici). Tali dinamiche hanno permesso di caratterizzare i neuroni aminergici come cellule REM-OFF (promotori di veglia) e i neuroni colinergici come cellule REM-ON (promotori dell'innesco del sonno REM) (Hobson, 2009; Hobson et al., 2000; McCarley & Hobson, 1975).

In sintesi, l'organizzazione temporale, la profondità e la durata del sonno risultano essere controllate da due differenti processi interagenti (modello bipartito): momento della giornata (processo circadiano, C) e quantità di veglia precedente (processo omeostatico, S) (Borbély, 1982).

1.2 Elettrofisiologia della transizione veglia-sonno

1.2.1 Ritmi corticali: dalla veglia attiva al sonno profondo

L'elevata risoluzione temporale delle tecniche elettroencefalografiche (EEG) ha consentito di identificare le variazioni dell'attività elettrica corticale nel corso della fisiologica

progressione da stati di veglia a stati di sonno, definendo la presenza di alcuni pattern EEG ricorrenti e distintivi di ciascuna fase.

L'ispezione visiva del tracciato elettroencefalografico permette di identificare stati di veglia e di sonno sulla base delle differenti configurazioni EEG (onde cerebrali) presenti nella finestra temporale considerata (epoca). In funzione della specifica frequenza (cicli/sec, Hz), è possibile individuare alcune principali tipologie di onde EEG: onde gamma (80-30 Hz), onde beta (30-15 Hz), onde sigma (15-12 Hz), onde alpha (12-8 Hz), onde theta (7-5 Hz) e onde delta (< 4 Hz).

In corrispondenza della fase di ingresso nel sonno, è possibile osservare il graduale e progressivo incremento di onde a bassa frequenza ed elevata ampiezza. Poiché onde ad elevata frequenza e bassa ampiezza definiscono un tracciato "desincronizzato", la progressiva sincronizzazione costituisce il fenomeno EEG più manifesto e macroscopico del periodo di addormentamento. Un pattern EEG "sincronizzato" o "desincronizzato" è indicativo dell'attività elettrica di specifiche popolazioni di neuroni, appartenenti alle differenti aree corticali da cui è stato registrato il segnale. In particolare, pattern desincronizzati si generano a seguito della modulazione che i sistemi neurotrasmettitoriali promotori della veglia (nuclei troncoencefalici) esercitano su popolazioni di neuroni talamocorticali, alterandone la soglia di eccitazione intrinseca (Steriade et al., 2001). L'effetto finale di depolarizzazione dei neuroni talamocorticali induce un tipo di attività di scarica tonica, che si ripercuote sulla corteccia provocando la desincronizzazione dei neuroni piramidali corticali, caratteristica dello stato di veglia (Steriade et al., 2001).

Durante lo stato di veglia attiva, l'attività corticale è caratterizzata da pattern di scarica neuronale nel *range* di frequenza del beta e del gamma (Niedermeyer, 2005). I neuroni corticali caratterizzati da pattern ritmici rapidi di scarica (*fast-rhythmic-bursting*, FRB) e con proiezioni dirette al talamo (Cardin et al., 2005; Steriade & Amzica, 1998) sono ritenuti i migliori candidati nella genesi di tali oscillazioni rapide. Numerose evidenze hanno suggerito l'associazione tra l'attività EEG in questo *range* di frequenze e processi attenzionali (Bouyer et al., 1981), percettivi (Gray et al., 1989), motori (Murthy & Fetz, 1992; Pfurtscheller & Neuper, 1992) o, più in generale, processamento cognitivo e sensoriale (Joliot et al., 1994; Llinas & Ribary, 1993; Singer & Gray, 1995). Sebbene i ritmi beta e gamma si manifestino attraverso pattern oscillatori distinti, la simultanea presenza dell'attività in queste due bande e le loro fluttuazioni congiunte suggeriscono l'esistenza di una stretta relazione funzionale tra i due ritmi, come dimostrato in diversi studi di cross-correlazione (Steriade et al., 1996).

In condizione di veglia rilassata, i ritmi più rapidi e implicati nello svolgimento di diverse attività (cognitive, percettive, motorie) tendono a diminuire, lasciando il posto a ritmi EEG sempre più lenti e sincronizzati. La produzione di attività alpha risulta particolarmente cospicua in uno stato di veglia rilassata ad occhi chiusi, manifestando una topografia ben delineata con una chiara prevalenza in aree occipitali. Il nucleo genicolato laterale (*Lateral Geniculate Nucleus*, LGN) del talamo ricopre un ruolo chiave nella genesi di attività alpha, come dimostrato in diversi studi di registrazione intracranica o di neuroimmagine (Da Silva et al., 1973; Goldman et al., 2002).

Quando in condizioni di rilassamento è presente un incremento della sonnolenza, l'attività alpha tende a ridurre la sua frequenza prevalente e ad essere progressivamente sostituita da attività theta (Schomer & Da Silva, 2012), la quale presenta un'associazione funzionale oltre che una comune origine talamica con l'attività alpha (Kanamori, 1993). È ben documentato che la comparsa di onde alpha e theta in aree frontali e parietali, a discapito di attività beta e gamma, sia un chiaro indice della progressiva riduzione dello stato di attivazione e vigilanza (Davies & Parasuraman, 1982; Papadelis et al., 2006). In particolare, il rallentamento del ritmo alpha è stato considerato per molto tempo il più evidente indicatore della transizione dalla veglia al sonno, mentre l'emergenza del ritmo theta rappresenta un affidabile indicatore dell'avvenuto ingresso nel sonno (Decoster & Foret, 1979; Strijkstra et al., 2003). Nonostante la presenza di tali macroscopiche variazioni, una definizione univoca e oggettiva dell'esatto momento di transizione risulta ostacolata dalla presenza di alcuni fattori. Un importante fattore è costituito dalla variabilità intersoggettiva o dall'eventuale presenza di disturbi del sonno associati ad alterazioni della latenza di sonno (es. insonnia, narcolessia). A rendere ulteriormente difficoltosa la definizione del confine veglia-sonno vi è l'oscillatoria alternanza tra l'instaurarsi di pattern EEG tipici dell'addormentamento e l'occasionale ripristino di pattern EEG di veglia (Liberson & Liberson, 1966). Per rispondere all'esigenza pratica di sistematizzare gli stadi evolutivi dell'addormentamento, alcuni autori hanno ideato una serie di sistemi classificatori. Uno dei primi sistemi formulati è stato quello di Loomis e collaboratori (1937), nel quale è prevista la progressione attraverso quattro stadi: veglia rilassata (attività EEG alpha), sonnolenza (perdita del ritmo alpha), stadio intermedio tra la veglia e il sonno (attività EEG a basso voltaggio), sonno (comparsa dei fusi del sonno). Successivamente, Bente e collaboratori (1964) hanno ulteriormente approfondito questa classificazione individuando sette differenti stadi di transizione. Il sistema standard di riferimento per la siglatura dell'interno periodo di sonno formulato da Rechtschaffen e

Kales (1968), definisce il passaggio dallo stadio W (veglia) al primo stadio di sonno sulla base della presenza di onde theta per più del 50% dell'intera epoca considerata. Hori e collaboratori (1994), prendendo in considerazione le variazioni regionali e temporali dello stato ipnagogico, hanno evidenziato la necessità di osservare l'evoluzione del tracciato EEG in addormentamento da differenti regioni corticali (prefrontali, frontali, centrali, parietali, temporali e occipitali). Attualmente non esiste un comune accordo nell'individuazione dell'inizio del sonno, con variazioni che dipendono dagli specifici scopi diagnostici o di ricerca. In generale, l'avvenuto addormentamento viene indicato in corrispondenza della presenza di uno stadio iniziale di sonno per almeno un minuto consecutivo o della comparsa di grafoelementi distintivi quali fusi del sonno o complessi K (De Gennaro et al., 2001).

Quando le stimolazioni sensoriali da parte del mondo esterno sono ridotte al minimo e ci si approssima alla fase di ingresso nel sonno, i neuroni talamocorticali non presentano più la tipica attività tonica indotta dagli impulsi eccitatori provenienti dai nuclei troncoencefalici, ma ripristinano gradualmente la loro attività fasica intrinseca, generando pattern EEG sempre più sincronizzati (ampio voltaggio e ridotta frequenza).

La struttura del sonno normale presenta un andamento ciclico, in cui si alternano due fasi fondamentali, distinte sulla base di parametri fisiologici e comportamentali: fase NREM e fase REM. A sua volta la fase NREM si compone di quattro stadi, di cui gli ultimi due definiti stadi di sonno profondo o ad "onde lente" (*Slow Wave Sleep*, SWS). Questi ultimi, sono principalmente caratterizzati da attività EEG ad elevata ampiezza e bassa frequenza (delta) e possiedono le maggiori proprietà ristorative. Dopo circa 90 minuti dall'addormentamento, avviene una brusca ed improvvisa modificazione del tracciato EEG che definisce l'inizio della fase di sonno REM, con attività ritmica desincronizzata simile a quella di veglia, atonia muscolare e presenza di movimenti oculari rapidi, da cui l'acronimo REM (*Rapid Eye Movement*). Normalmente, nel passaggio tra un ciclo e l'altro possono presentarsi brevi periodi di *arousal* corticale, e, man mano che i cicli di sonno si ripetono, la percentuale di sonno profondo diminuisce, a favore degli stadi 1 e 2 NREM e dello stadio REM.

1.2.2 Variazioni spazio-temporali in addormentamento

Ogni fenomeno elettroencefalografico legato al sonno, dalla fase di addormentamento alla fase del risveglio, possiede una natura strettamente “locale” (Ferrara & De Gennaro, 2011; Siclari & Tononi, 2017).

Durante la fase di addormentamento, scenario privilegiato di transizione, si è potuto osservare chiaramente come il processo di sincronizzazione EEG coinvolga in modalità differenziata le aree cerebrali e come tali modificazioni siano variabili in funzione del tempo.

Secondo alcuni studi di registrazione EEG in profondità (stereo- EEG), strutture sottocorticali quali talamo e ippocampo sarebbero le prime a manifestare il pattern tipico di addormentamento (circa 10 minuti di anticipo rispetto alla corteccia) (Rey et al., 2007; Sarasso et al., 2014). Anche a livello corticale è stata osservata un'elevata variabilità tra l'attività EEG delle diverse aree cerebrali in fase di addormentamento (Magnin et al., 2010; Sarasso et al., 2014), con particolare riferimento all'asincronia nella comparsa di onde lente (Riedner et al., 2007).

Nello studio di Marzano e collaboratori (2013), differenze significative tra epoche precedenti e successive all'addormentamento si riscontrano per tutte le derivazioni, ma solo in relazione a ritmi EEG con frequenze inferiori ad 8 Hz, per i quali si registra un significativo e generico incremento della potenza spettrale. Per quanto riguarda ritmi caratterizzati da frequenza molto bassa (< 2 Hz), si osserva una relativa prevalenza in aree corticali frontali nelle prime epoche di registrazione, ulteriormente accentuata in seguito ad avvenuto addormentamento. L'attività EEG a 3-4 Hz esibisce una lieve diffusione da aree centrali ad aree parietali e occipitali; tale diffusione si è rivelata ancor più marcata all'interno del *range* di frequenze 5-7 Hz (attività theta). La preminenza di onde lente in zone anteriori dello scalpo nella fase pre-addormentamento conferma quanto osservato in precedenti studi (Corsi-Cabrera et al., 2006; De Gennaro et al., 2001), nei quali si descrive anche una contemporanea e reciproca prevalenza di attività rapida (> 8 Hz) in aree posteriori. Relativamente al ritmo alpha (8-12 Hz), da una iniziale prevalenza in aree posteriori occipitali, si verifica una progressiva “anteriorizzazione” caratterizzata da ricomparsa del ritmo alpha in zone frontali nel periodo post-addormentamento (De Gennaro et al., 2001; Marzano et al., 2013).

La gamma di frequenze corrispondenti ad attività sigma (12-14 Hz) manifesta un incremento in zone mediosagittali nella fase successiva all'addormentamento, in accordo con gli stessi criteri definizionali che collocano l'esordio dello stadio 2 NREM in corrispondenza della comparsa di fusi del sonno (attività sigma). Gli stessi studi

descrivono per attività EEG ad elevata frequenza (16-25 Hz) una progressiva e diffusa diminuzione della potenza spettrale post- addormentamento, tanto più marcata quanto più elevata è la frequenza delle bande considerate.

Dall'analisi del timecourse riferito ai minuti successivi all'avvenuto addormentamento, sono emersi ulteriori interessanti risultati relativi all'evoluzione dei cambiamenti nella potenza spettrale delle diverse bande. L'attività ad onde lente va incontro ad un progressivo incremento lungo la linea mediosagittale, raggiungendo il suo picco intorno al decimo minuto successivo all'addormentamento, per poi decrementare nuovamente in prossimità dell'insorgenza di sonno REM. L'attività theta presenta invece un gradiente prevalentemente fronto-centrale, che incrementa radicalmente in seguito all'insorgenza del sonno e determina un progressivo e costante coinvolgimento delle aree occipitali. L'attività alpha subisce, per certi versi, un andamento speculare all'attività theta: decrementa progressivamente nelle aree occipitali ed incrementa in quelle frontali nel momento di esordio del sonno ("anteriorizzazione").

Numerosi studi hanno descritto le dinamiche spazio-temporali della potenza spettrale della specifica attività oscillatoria su pattern EEG di veglia (De Gennaro et al., 2007; Finelli et al., 2000; Tinguely et al., 2006) e di sonno (Cajochen et al., 1999; Finelli et al., 2001; Marzano et al., 2010) successivi a periodi di veglia prolungata. Recentemente, tali effetti sono stati indagati in relazione al processo di addormentamento, illustrando variazioni sensibili all'effetto di aumentata pressione verso il sonno (Gorgoni et al., 2019). Nello specifico, sebbene la topografia EEG dell'addormentamento in condizione di *recovery* sia sovrapponibile a quella di *baseline*, è stato osservato un generico incremento della potenza spettrale di frequenze lente ($\leq 9\text{Hz}$), localizzato prevalentemente in aree fronto-centrali. Tale intensificazione del tipico processo di sincronizzazione (potenziamento di attività delta e theta) risulta coerente con l'incremento della spinta omeostatica verso il sonno, dovuto alla pregressa deprivazione.

L'osservazione dell'andamento temporale dei generatori corticali, attraverso tecniche di ricostruzione delle sorgenti del segnale EEG (*Low-resolution Electromagnetic Tomography*, LORETA), ha confermato il manifestarsi degli stessi pattern frequenza-specifici osservati a livello di scalpo, in condizioni sia di *baseline* che di *recovery* (Fernandez Guerrero & Achermann, 2019).

Nello studio di Siclari e collaboratori (2014), mediante registrazioni EEG ad alta densità (hd- EEG), che hanno permesso di coniugare l'elevata risoluzione temporale propria dell'EEG ad una discreta risoluzione spaziale, è stata osservata la progressione temporale e

la distribuzione locale di fusi del sonno (*spindles*) e onde lente durante la fase di addormentamento. Il numero degli *spindles* registrati sembrerebbe progressivamente aumentare, con un marcato incremento soprattutto in aree corticali anteriori. Un andamento opposto caratterizza invece la frequenza: ad un iniziale lieve incremento segue una graduale diminuzione della frequenza degli *spindles*, definendo il passaggio da fusi "rapidi" (alta frequenza) a fusi "lenti" (bassa frequenza). I risultati dello studio confermano la nota esistenza di due distinte tipologie di fusi del sonno (Anderer et al., 2001), con una corrispettiva prevalenza differenziata nelle aree corticali: i fusi "rapidi" (13-15 Hz) presentano maggiore diffusione centro-parietale, mentre i fusi "lenti" (11-13 Hz) si distribuiscono soprattutto in aree frontali. Interessanti variazioni sono state osservate anche rispetto all'evoluzione topografica globale degli *spindles*, che prevede un crescente coinvolgimento della superficie corticale: nelle fasi iniziali essi si manifestano in regioni corticali delimitate, successivamente si diffondono anche in zone più distali. Dunque, è possibile dedurre un andamento bifasico nello sviluppo degli *spindles*: inizialmente appaiono sporadici, rapidi e circoscritti in determinate aree cerebrali, con l'inoltrarsi del sonno si manifestano più numerosi, lenti e diffusi in molteplici aree. I risultati sono coerenti con quanto osservato nello studio di Marzano e collaboratori (2013), nel quale i pattern di variazione EEG spazio-temporale dell'attività sigma coincidono con l'evoluzione bifasica dello sviluppo dei fusi del sonno.

Relativamente al diffondersi delle onde lente, analizzando separatamente l'evolversi temporale del numero e della durata di tali onde, è stato possibile distinguere all'interno di questo generico incremento, la presenza di due dissociati processi di sincronizzazione (Siclari et al., 2014). Il decorso temporale opposto relativo a numero (in graduale aumento) ed ampiezza (in graduale diminuzione) delle onde lente delinea un pattern evolutivo bifasico, determinato da una prima fase di addormentamento caratterizzata da un esiguo numero di onde lente ad elevata ampiezza (onde lente di tipo I) e una secondaria fase in cui sono presenti un maggior numero di onde lente con ampiezza ridotta rispetto alle precedenti (onde lente di tipo II). Nel passaggio dall'una all'altra fase vi è un periodo transiente di decremento della potenza spettrale delle onde delta, dovuto al fatto che alla riduzione dell'ampiezza delle onde non corrisponde ancora un incremento del loro numero. Analizzando il coinvolgimento corticale relativo ad onde lente precoci e tardive, si osserva per onde precoci un'ampia prevalenza frontale, mentre le onde lente tardive sono presenti in maniera diffusa in aree parietali, temporali e occipitali, coerentemente con l'evidenza di

una precoce sincronizzazione che interessa le aree corticali anteriori (De Gennaro et al., 2001).

Gli Autori ipotizzano, per le due tipologie di onde, differenti processi di sincronizzazione sottostanti (Siclari et al., 2014): un iniziale processo di sincronizzazione origina a livello sottocorticale, in corrispondenza dei nuclei dei sistemi neuromodulatori di *arousal*, propagandosi in corteccia mediante specifiche proiezioni (processo "*bottom-up*"); successivamente, un'ulteriore ondata di sincronizzazione si diffonde attraverso le differenti aree corticali (processo "*orizzontale*") mediante connessioni cortico-corticali. Mentre la sincronizzazione subcortico- corticale risulta rapida ed efficace ed ha come effetto la produzione di onde lente di tipo I, quella cortico- corticale induce la generazione di onde lente meno ampie e localizzate, ma maggiormente diffuse in tutta la superficie corticale (onde lente di tipo II).

Complessivamente i dati sono a favore della dimostrazione dell'esistenza di un gradiente antero-posteriore che regola la progressione verso il sonno e la sua evoluzione temporale (Landolt & Borbély, 2001; Werth et al., 1996), supportando la nozione di sonno inteso come processo locale (Krueger & Obal JR, 1993). Gli epifenomeni maggiormente evidenti nella transizione veglia-sonno sono infatti l'"anteriorizzazione" del ritmo alpha e la "posteriorizzazione" del ritmo theta, accompagnati dal generico processo di sincronizzazione dell'attività EEG che determina la diffusione di onde lente.

L'esistenza di variazioni lungo l'asse cerebrale antero- posteriore è confermata anche da studi volti ad indagare le dinamiche delle connessioni funzionali tra aree cerebrali e la direzione dei sottostanti flussi di informazione.

Per quanto riguarda l'analisi della coerenza tra attività EEG in punti differenti lungo la linea mediana (frontale, parietale, occipitale), è stato osservato in seguito ad addormentamento un decremento della coerenza spettrale relativa ad attività delta/theta e un suo incremento relativo ad attività alpha (De Gennaro et al., 2004). La diminuzione della coerenza per attività a bassa frequenza coincide con la maggiore incidenza di attività ad onde lente in aree frontali nelle prime fasi dell'addormentamento; al contrario, l'aumentata coerenza osservata per attività alpha è ben spiegata dal fenomeno di anteriorizzazione dell'alpha (Marzano et al., 2013).

L'analisi della direzionalità del flusso di informazioni antero- posteriore, eseguita mediante DTF (*Direct Transfer Function*), ha evidenziato un'inversione di tale flusso durante la transizione veglia-sonno. Nella fase che precede l'addormentamento, si assiste ad una prevalente diffusione dell'attività EEG dalle aree posteriori a quelle anteriori; viceversa, in

seguito ad addormentamento, si verifica un progressivo incremento di diffusione dalle aree anteriori a quelle posteriori (De Gennaro et al., 2004). Tale effetto di inversione è prevalente per attività a bassa frequenza e massimo per attività alpha e sigma. Gli Autori discutono i risultati osservati interpretando la direzionalità postero-anteriore tipica della veglia in funzione della trasmissione di informazioni sensoriali visive da aree occipitali ad aree prefrontali associative; al contrario, il cambiamento della direzione del flusso sarebbe indice della propagazione di attività sincronizzata da aree frontali ad aree parietali e occipitali, caratteristica della fase di addormentamento.

Le dinamiche di modificazione antero- posteriore del flusso di informazioni potrebbero inoltre giustificare alcune caratteristiche formali e sensoriali delle immagini ipnagogiche, che tipicamente accompagnano i diversi stadi di addormentamento (Hori et al., 1994).

Lo stesso tipo di indagine è stata eseguita su un campione di partecipanti sottoposti a deprivazione selettiva di sonno ad onde lente (De Gennaro et al., 2005). Il fenomeno di inversione della direzionalità del flusso di informazioni (da postero- anteriore a antero- posteriore), generalmente in corrispondenza dell'insorgenza del sonno, nel caso di deprivazione di sonno anticipa la sua comparsa: i soggetti hanno infatti manifestato tale inversione ancor prima dell'addormentamento. Anche in questo caso, tale effetto è potenzialmente riconducibile all'induzione di aumentata pressione verso il sonno dovuta alla regolazione omeostatica, che interessa prevalentemente l'attività ad onde lente (Ferrara et al., 2002). In uno studio recente, l'analisi della connettività funzionale eseguita mediante applicazione della teoria dei grafi, ha mostrato un maggior grado di segregazione dei *network* cerebrali per le bande di frequenze più lente (theta e delta) e, al contrario, una minore segregazione per la banda del sigma (*spindles*), fenomeni rispettivamente indicativi di una ridotta e potenziata connettività funzionale post-addormentamento per le diverse bande di frequenza esaminate (Vecchio et al., 2017).

L'insieme di questi risultati illustra ancora una volta che l'insorgenza del sonno si verifica in modalità asincrona nelle differenti aree corticali, e che il *network* fronto- parieto- occipitale è quello maggiormente implicato nella genesi di tali variazioni.

1.3 Aspetti psicofisiologici della sonnolenza e della vigilanza

1.3.1 Definizione dei costrutti

La sonnolenza viene classicamente definita come una sensazione soggettiva, un segnale endogeno che ci informa sul fisiologico bisogno di sonno ed esprime il desiderio di dormire (Broughton et al., 1988).

Esattamente come avviene per il ciclo sonno-veglia, i livelli di sonnolenza nel corso delle 24 ore si esprimono in funzione dell'interazione tra processo S e processo C (Borbély, 1982). La pressione omeostatica conseguente all'accumulo di ore di veglia raggiunge la sua massima espressione nelle ore serali, per poi decrementare nuovamente in seguito al rilascio di melatonina da parte dell'ipofisi (Dijk & Cajochen, 1997; Shochat et al., 1997). Parallelamente, delineando un profilo d'onda sinusoidale, i ritmi cronobiologici promuovono picchi di vigilanza durante la sera (solitamente dopo circa 12 ore dal risveglio) e nelle prime ore del mattino (circa 05:00) (Dijk & Czeisler, 1994; Dijk & von Schantz, 2005).

L'interazione dinamica tra questi due processi delinea l'esistenza di due periodi di massima propensione al sonno (picchi di sonnolenza): uno di entità lieve durante la fascia pomeridiana postprandiale e l'altro, di maggiore entità, in tarda serata.

Diversi studi hanno confermato la validità empirica del modello a due processi teorizzato da Borbély, dimostrando variazioni della quantificazione di sonnolenza sensibili allo specifico momento della giornata o ad una pregressa deprivazione di sonno (Casagrande et al., 1997; Dijk et al., 1990). Una successiva rivisitazione del modello ha previsto l'integrazione di un ulteriore processo (W) legato al fenomeno di inerzia del sonno (Folkard & Åkerstedt, 1987), ovvero al fisiologico calo della vigilanza che segue il momento del risveglio (Gorgoni et al., 2015; Tassi et al., 2006).

Negli anni, le diverse critiche mosse al modello originario di Borbély hanno condotto alla formulazione di costrutti teorici sempre più accurati e predittivi. Un importante contributo è stato apportato dal modello di Edgar e collaboratori (1993), secondo il quale in aggiunta alla spinta verso il sonno è opportuno considerare l'esistenza di una complementare e opposta spinta alla veglia, ugualmente rilevante nella gestione della regolazione dei ritmi sonno-veglia. Il grado di *arousal* fisiologico infatti, determinato da fattori biologici e ambientali, costituirebbe una spinta attivante potenzialmente in grado di opporsi e mascherare la coesistente propensione al sonno.

Un ulteriore passo in avanti è stato compiuto grazie al modello di Johns (Johns & Hocking, 1997), secondo il quale le due forze opposte (bisogno di sonno e livello di *arousal*) sarebbero entrambe costituite da una componente primaria, data dall'attività intrinseca di specifici gruppi neuronali, e una componente secondaria, data da fattori ambientali e

situazionali. La reciproca inibizione tra ciascuna tipologia di componente appartenente all'una o l'altra forza determinerebbe lo stato finale esperito di propensione al sonno.

In ciascuno dei modelli descritti, la sonnolenza è intesa come fenomeno situazionale, inerente ad un periodo ben definito; tuttavia, è opportuno considerare anche la distinzione tra sonnolenza di "stato" e sonnolenza di "tratto", alla base dell'esistenza di considerevoli variabilità interindividuali nei livelli basali di *arousal* e necessità di sonno (Cluydts et al., 2002), spiegati in parte da fattori genetici (Heath et al., 1990).

Al di là della difficoltà di inquadrare la sonnolenza all'interno una cornice teorica sufficientemente esplicativa, la natura elusiva del costrutto facilita una generale tendenza ad utilizzare indistintamente una serie di termini legati a questo ambito.

Erroneamente, si tende a confondere e sovrapporre il concetto di sonnolenza a quello di "fatica", "stanchezza" o "mancanza di energie". Mentre la fatica (mentale o fisica) è legata alla progressiva riduzione della propensione ad effettuare uno sforzo prolungato nel tempo e può temporaneamente risolversi con l'interruzione dell'attività in corso, la sonnolenza è data dall'impulso ad addormentarsi e può risolversi esclusivamente con il sonno.

La vigilanza, definita come capacità di attenzione protratta nel tempo, è chiaramente in relazione al costrutto di sonnolenza: un incremento di sonnolenza è associato alla riduzione dei livelli di vigilanza e viceversa. Tuttavia, la vigilanza non rappresenta semplicemente un concetto antitetico a quello di sonnolenza, include infatti componenti specifiche, che riguardano il grado di responsività ed interazione nei confronti dell'ambiente circostante.

La tendenza alla sonnolenza subisce variazioni nell'arco di vita e, da studi epidemiologici, livelli più elevati sembrerebbero interessare soprattutto la fascia di età dei giovani adulti (Levine et al., 1988) e degli anziani (Dement & Carskadon, 1981).

La percezione soggettiva di sonnolenza si accompagna a numerose variazioni sul piano cognitivo, comportamentale e fisiologico. Diversi studi hanno dimostrato il decremento di abilità percettive, di ragionamento, di giudizio e di presa di decisione (Bonnet & Arand, 1995; Dinges & Kribbs, 1991). Inoltre, è esperienza comune la manifestazione di sonnolenza attraverso comportamenti quali riluttanza e difficoltà di movimento, bruciore agli occhi con difficoltà a mantenerli aperti, sbadigli frequenti, movimenti della testa, espressione verbale rallentata. Per quanto riguarda le più evidenti espressioni fisiologiche dello stato di ipo-vigilanza è possibile osservare un incremento dei movimenti oculari lenti (*Slow Eye Movements*, SEMs), parallelamente alla riduzione lineare degli ammiccamenti oculari spontanei (*blinks*) e dei movimenti saccadici (De Gennaro et al., 2000; Hori, 1982; Ogilvie et al., 1989). Il tono muscolare decrementa gradualmente (Ogilvie, 2001), il battito

cardiaco rallenta e l'ampiezza dei movimenti respiratori diminuisce (Liberson & Liberson, 1966). Inoltre, variazioni nei parametri autonomici a seguito di continue fluttuazioni tra attivazione del sistema simpatico (deputato alla veglia) e parasimpatico (deputato al sonno) determinano un maggiore instabilità del diametro pupillare (Lavie, 1979). Sulla base di tali variazioni del sistema neurovegetativo si basa l'utilizzo della pupillometria, la quale presenta il vantaggio di essere una tecnica maggiormente agevole ed economica rispetto all'EEG, sebbene i risultati si siano rivelati piuttosto controversi (Newman & Broughton, 1991; Ranzijn & Lack, 1997).

In sintesi, è possibile concludere che la sonnolenza rappresenta un costrutto multidimensionale, che si esprime attraverso diversi indici (soggettivi, comportamentali e fisiologici) e può essere influenzata da numerosi fattori sia interni che esterni, come ad esempio la qualità e quantità di sonno, la fase circadiana, l'attenzione e la motivazione, l'assunzione di determinate sostanze, l'esistenza di alcune condizioni patologiche o la presenza di circostanze ambientali più o meno stimolanti.

1.3.2 Misure di sonnolenza e vigilanza

Una delle ragioni per cui gli studiosi del sonno hanno trascurato a lungo l'analisi di costrutti quali sonnolenza o vigilanza risiede nella difficoltà di quantificare tali stati psicofisiologici complessi mediante misurazioni obiettive e replicabili.

Ad oggi, sono state messe a punto diverse tecniche per la stima dei livelli di sonnolenza-vigilanza, volte a rendere operazionalizzabili aspetti sia soggettivi che oggettivi (comportamentali e fisiologici).

I metodi soggettivi prevedono una quantificazione della sonnolenza basata sulla percezione e consapevolezza dell'individuo rispetto ai suoi sintomi, mediante l'utilizzo di scale *self report*, in cui al soggetto è richiesto di indicare la propria condizione tra una serie di descrittori verbali. Tali strumenti si suddividono in due principali categorie: misurazione dell'entità della sonnolenza di "stato" (esperito in uno specifico momento) e di "tratto" (presente stabilmente nell'individuo) (Curcio et al., 2001).

Le scale volte a misurare la sonnolenza di stato richiedono di valutare la sintomatologia acuta (nel breve termine) e risultano dunque sensibili a variazioni sia omeostatiche (sonno pregresso) che circadiane (fase della giornata) (Babkoff, Caspy, Hishikawa, & Mikulincer, 1991). Tra gli strumenti più utilizzati di questa categoria vi sono la *Stanford Sleepiness*

Scale (SSS) (Hoddes, 1971), il *Karolinska Sleepiness Scale* (KSS) (Åkerstedt & Gillberg, 1990) e le scale di valutazione visuo-analogica (VAS) (Monk, 1987).

Lo *Stanford Sleepiness Scale* è uno dei primi test utilizzati per la misurazione della sonnolenza soggettiva nel breve periodo. Al soggetto viene richiesto di indicare il proprio livello di sonnolenza al momento della somministrazione attraverso una scala Likert a 7 punti, che vanno da uno stato di completa vigilanza ad uno stato di estrema sonnolenza. In soggetti sani, questo test ha dimostrato una elevata sensibilità all'aumento della sonnolenza conseguente a periodi sostenuti di deprivazione di sonno (Herscovitch & Broughton, 1981; Hoddes, Zarcone, Smythe, Phillips, & Dement, 1973).

Uno strumento molto simile è rappresentato dal *Karolinska Sleepiness Scale*, costituito da una Scala Likert a 9 punti (da “molto vigile” a “molto sonnolento”), in cui al soggetto è richiesto di indicare quale livello meglio rappresenti il proprio stato psicofisico in riferimento al momento della compilazione del test. Così come per lo SSS, diversi studi hanno dimostrato la sensibilità del KSS a variazioni omeostatiche (Åkerstedt & Gillberg, 1990) e circadiane (Kecklund & Åkerstedt, 1993).

Le scale visuo-analogiche sono costituite da un segmento di retta (generalmente lungo 10 cm) che rappresenta un continuum tra due estremità, lungo il quale il soggetto può indicare il proprio stato, apponendo un segno sul punto corrispondente. Tali scale possono essere unipolari o bipolari, in funzione della valutazione basata su una o più dimensioni da valutare lungo la scala continua. Le scale visuo-analogiche presentano il vantaggio di superare la valutazione discreta e poco realistica tra differenti stati psicofisiologici, offrendo un continuum di possibili risposte; inoltre, risultano essere particolarmente attendibili grazie alle caratteristiche percettive facilmente intuitive.

Le scale volte alla misurazione della sonnolenza di tratto richiedono al soggetto di stimare un indice globale del livello di sonnolenza, trasversale a diversi contesti e stabile nel tempo, partendo dal presupposto che tale costrutto possa essere legato ad una caratteristica individuale costante e indipendente da fattori omeostatici o circadiani.

All'interno di questa categoria la più utilizzata è certamente l'*Epworth Sleepiness Scale* (ESS) (Johns, 1991). Al soggetto è richiesto di fornire una stima della sua probabilità di addormentarsi (punteggio da 0 a 3) in 8 differenti situazioni tipiche di vita quotidiana e di natura soporifera variabile. Il punteggio globale è dato dalla somma dei singoli item (da 0 a 24) e può essere indicativo della presenza di elevati livelli di sonnolenza diurna auto-percepita (> 10). Diversi studi test-retest confermano la validità dell'ESS come misura stabile della sonnolenza di tratto (Johns, 1992; Knutson et al., 2006). Inoltre, l'ESS ha

dimostrato elevata attendibilità nel fornire un'accurata distinzione tra pazienti con narcolessia o ipersonnia idiopatica e soggetti normodormitori (Johns & Hocking, 1997).

Uno strumento meno utilizzato per la valutazione della sonnolenza di tratto è il questionario multidimensionale *Sleep-Wake Activity Inventory* (SWAI) (Rosenthal et al., 1993). Composto da 59 item nella sua versione originale, presenta le sottoscale *Excessive Daytime Sleepiness* (9 item) e *Nocturnal Sleep* (3 item), specifiche per la valutazione dei sintomi relativi alla sonnolenza.

La valutazione introspettiva della sonnolenza presenta una serie di vantaggi legati alla rapidità, economia e semplicità di somministrazione, che ne favoriscono un diffuso utilizzo in ambito sia clinico che sperimentale. Di contro, l'autovalutazione del proprio stato psicofisico di ipoattivazione non esclude la presenza di bias dovuti a fattori individuali, quali distorsioni cognitive, mispercezioni, falsificazioni e specifici livelli attenzionali e motivazionali al momento della compilazione.

I metodi oggettivi di valutazione del grado di sonnolenza si basano sulla stima di una serie di parametri comportamentali e fisiologici.

Gli strumenti di misurazione riferiti a variabili comportamentali si fondano sull'evidenza che nei soggetti con elevati livelli di sonnolenza sia presente un decremento in diverse funzioni percettive e cognitive (Bonnet & Arand, 1995; Dinges & Kribbs, 1991), con conseguenti modificazioni nelle performance. I parametri sui cui maggiormente si riflette tale decremento sono la presenza di errori di omissione o commissione (accuratezza) o un rallentamento nel fornire la risposta (rapidità).

Il test di performance più comunemente utilizzato è rappresentato dallo *Psychomotor Vigilance Task* (PVT). Ideato da Dinges e Powell (1985), è uno strumento di valutazione della vigilanza psicomotoria basato sulla rilevazione dei tempi di reazione (*reaction times*, RTs). Costituisce uno degli strumenti più validati per l'osservazione delle variazioni comportamentali associate alla presenza di sonnolenza diurna, dimostrando una elevata sensibilità a fattori omeostatici e circadiani (Dinges et al., 1997; Wright et al. 2002; Wyatt et al., 1997). In particolare, viene largamente utilizzato negli studi di deprivazione, in quanto altamente sensibile agli effetti della veglia prolungata (Van Dongen et al., 2003).

La versione standard ha una durata complessiva di 10 minuti, durante i quali il soggetto è comodamente seduto davanti allo schermo di un PC. Ad intervalli irregolari (da 2 a 10 secondi) al centro del monitor compare uno stimolo visivo. Al soggetto è richiesto di rispondere il più rapidamente possibile alla comparsa dello stimolo, mediante pressione di un tasto. Tale test risulta particolarmente vantaggioso, poiché offre la possibilità di

raccogliere un gran numero di dati in poco tempo, fornendo diverse misure che tengono conto di indici sia di rapidità che di accuratezza delle risposte. Inoltre, non sembrano essere presenti effetti di apprendimento (Khitrov et al., 2014), il che lo rende una misura ripetibile dallo stesso soggetto in differenti momenti e condizioni. La natura ecologica ed oggettiva di questo strumento giustifica dunque il suo diffuso utilizzo in contesti sia clinici che di ricerca, oltre che nella valutazione e prevenzione dei rischi correlati alla presenza di eccessiva sonnolenza diurna.

I metodi oggettivi di valutazione della sonnolenza basati su misurazione di variazioni spontanee di parametri fisiologici si avvalgono prevalentemente dell'utilizzo di registrazioni elettroencefalografiche, elettrooculografiche (EOG) ed elettromiografiche (EMG).

Lo strumento d'elezione appartenente a questa categoria è rappresentato dal Test delle Latenze Multiple del Sonno (*Multiple Sleep Latency Test*, MSLT), ideato da Carskadon e Dement (1982). In accordo con le raccomandazioni indicate nelle linee guida standard (Littner et al., 2005), il test ha inizio a distanza di almeno 1,5-3 ore dal risveglio da un sonno notturno della durata minima di 6 ore (monitorata tramite polisonnografia completa) e preceduto da una settimana di valutazione dei ritmi sonno-veglia (monitorati tramite Diari del sonno o Attigrafia). Il test consiste nell'esecuzione di una serie di prove (4 o 5) ripetute nel corso della giornata ad intervalli regolari (circa 2 ore), nelle quali il soggetto viene posto sdraiato sul letto in una situazione di riposo ad occhi chiusi, all'interno di un ambiente buio, silenzioso e confortevole. L'istruzione data al soggetto è quella di cercare di addormentarsi e ciascuna prova viene interrotta dopo una durata massima di 20 minuti o dopo 15 minuti dalla comparsa di un chiaro segnale di avvenuto addormentamento, stabilito mediante monitoraggio poligrafico online. Tra ciascuna prova è proibito dormire, eseguire attività eccessivamente stimolanti o assumere sostanze psicoattivi. Convenzionalmente, viene presa in considerazione la latenza media di addormentamento tra le diverse prove e l'eventuale presenza di addormentamenti in fase REM. Diversi studi attestano l'elevata sensibilità di questo strumento a variazioni circadiane (Richardson et al., 1982), pregresse deprivazioni di sonno (Carskadon & Dement, 1977) o assunzione di alcool e ipnotici (Thorpy et al., 1992). Inoltre, viene frequentemente impiegato come esame diagnostico nella pratica clinica, soprattutto nel contesto della valutazione della narcolessia di tipo 1 o 2 e dell'ipersonnia idiopatica come possibili cause di eccessiva sonnolenza diurna (ESD).

Un secondo strumento di valutazione della sonnolenza oggettiva, altrettanto riconosciuto e quasi del tutto sovrapponibile al MSLT, è il Test di Mantenimento della Veglia (*Maintenance of Wakefulness Test*, MWT), ideato da Mitler (1982). La differenza sostanziale risiede nella consegna fornita al partecipante, al quale viene richiesto di cercare di rimanere sveglio. In questo caso il soggetto è posto in posizione seduta e comoda, con gli occhi aperti e fermi e in un ambiente scarsamente illuminato. Ciascuna prova ha una durata massima di 40 minuti nel caso in cui il soggetto non andasse incontro ad addormentamento, mentre viene immediatamente interrotta in seguito alla comparsa di un indubbio segnale di avvenuto addormentamento (documentato poligraficamente). A differenza del MSLT, il MWT non rappresenta uno strumento diagnostico, ma il suo utilizzo è indicato per la valutazione dell'abilità di mantenimento della vigilanza in contesti nei quali eccessivi livelli di sonnolenza possano costituire un pericolo individuale o sociale. Il test viene inoltre frequentemente utilizzato in fase di *follow-up*, per la verifica della risposta ad un eventuale trattamento in pazienti che presentano eccessiva sonnolenza diurna.

Entrambi i protocolli rappresentano il *gold standard* per la quantificazione oggettiva della sonnolenza, a fini sia clinici che di ricerca, grazie alle numerose evidenze su cui è basata la loro validazione. Tuttavia, nonostante l'apparente equivalenza formale, non sempre i risultati dell'uno e dell'altro test risultano essere coerenti. Una possibile spiegazione a tale apparente paradosso è stata proposta da Sangal e collaboratori (1992), secondo i quali alla base dell'eventuale disparità vi sarebbe l'ipotesi che i due strumenti siano orientati a misurare differenti funzioni, ciascuna con peculiari meccanismi cerebrali sottostanti. A seconda della specifica consegna, i due test misurano diversi aspetti oggettivi della sonnolenza, legati rispettivamente alla velocità di addormentamento (circuiti regolatori dei ritmi sonno-veglia) e all'abilità di mantenimento della veglia (circuiti regolatori del grado di *arousal*), in condizione di assenza di stimolazione ambientale (ambiente nettamente o parzialmente soporifero). La scelta dell'uno o dell'altro test risulta dunque strettamente vincolata dallo specifico scopo dell'indagine.

Nonostante le metodiche basate su parametri fisiologici rappresentino strumenti ottimali per la valutazione della sonnolenza in ambito clinico, l'invasività e i costi legati alla strumentazione costituiscono il principale limite ad un'estesa diffusione del loro utilizzo nel campo della ricerca e della prevenzione, contrariamente a quanto osservato per le tecniche di misurazione introspettive o basate sulla performance.

1.3.3 Disturbi correlati ad Eccessiva Sonnolenza Diurna

Come descritto nei precedenti paragrafi, la sonnolenza di per sé rappresenta un fenomeno fisiologico utile e necessario, in grado di informarci sul nostro stato di propensione al sonno e pertanto auspicabile quando quest'ultimo risulta desiderato e opportuno.

La condizione patologica definita Eccessiva Sonnolenza Diurna (ESD) è caratterizzata primariamente da difficoltà a rimanere svegli durante le ore diurne, con possibili addormentamenti in situazione più o meno appropriate e, secondariamente, da difficoltà di concentrazione, perdita di memoria, allucinazioni (*International Classification of Sleep Disorders - ICSD-3, 2014*).

L'ESD può manifestarsi in forma isolata o costituire un sintomo all'interno di quadri patologici più complessi.

Quantificare la prevalenza di tale fenomeno nella popolazione generale risulta complesso a causa una serie di fattori, come l'assenza di una definizione operativa univoca e di strumenti standard di rilevazione. Inoltre, la prevalenza di ESD varia in funzione di alcuni aspetti legati al manifestarsi del fenomeno: frequenza, gravità, ripercussioni, contesto.

Alla luce di tali fattori, i vari studi epidemiologici riportano stime disomogenee, con un *range* di prevalenza che va dal 5 al 28% (Ohayon, 2012). Una prevalenza complessiva di ESD all'interno della popolazione è stata stimata intorno al 18% in uno studio condotto su popolazione americana (Swanson et al., 2011); ulteriori studi condotti attraverso interviste dirette (popolazione giapponese) o telefoniche (popolazione norvegese) hanno riportato prevalenze contrastanti, rispettivamente del 2,5% (Kaneita et al., 2005) e del 17,7% (Pallesen et al., 2007). Un indice di gravità moderato e grave del sintomo è stato invece riscontrato nell'8,7% della popolazione americana (Bixler et al., 2005). Non sembrerebbero manifestarsi differenze significative di prevalenza in funzione del genere (Liljenberg et al., 1988) o della fascia di età (Foley et al., 2001; Janson et al., 1995).

Nonostante il quadro variegato fornito dai differenti studi, risulta chiaro che il fenomeno è di portata rilevante e fortemente presente all'interno della popolazione.

Le condizioni eziopatologiche alla base dell'insorgenza di ESD possono essere classificate all'interno di tre principali categorie: alterazioni dei comportamenti legati al sonno (es. deprivazione di sonno, frammentazione del sonno, inadeguata igiene del sonno), assunzione di determinate tipologie di farmaci (es. stimolanti, sedativi, beta bloccanti) o presenza di concomitanti disturbi di natura medica (disturbi neurologici, cardiaci, polmonari) o psichiatrica (ansia, depressione).

La più comune causa di ESD è legata alla presenza di patologie intrinseche del sonno, per alcune delle quali l'ESD rappresenta un sintomo patognomonico. Con riferimento all'ICSD 3, l'ESD è presente nelle Ipersonnie Primarie (Narcolessia di tipo 1 e 2, Ipersonnia idiopatica, Sindrome di Kleine-Levin) e Secondarie (dovute a patologia medica o psichiatrica o all'utilizzo di farmaci o sostanze), nei Disturbi del Ritmo Circadiano e nei Disturbi Respiratori del Sonno (apnee notturne).

Trattandosi dunque di un sintomo trasversalmente riscontrato in diverse condizioni mediche piuttosto che un disturbo a se stante, un suo corretto inquadramento all'interno di uno specifico contesto clinico risulta fondamentale per la successiva pianificazione di un intervento adeguato. Attualmente, si dispone di una serie di strumenti diagnostici per la caratterizzazione dei diversi aspetti soggettivi e oggettivi di ESD. Dopo un'accurata raccolta di dati anamnestici (medici, psichiatrici, ipnologici), si procede con la somministrazione di scale soggettive standardizzate per la rilevazione sonnolenza autopercepita di "stato" (es. scala di Standford, SSS; scala di Karolinska, KSS) e di "tratto" (es. Epworth Sleepiness Scale, ESS). Le procedure di laboratorio più comuni per la misurazione oggettiva della sonnolenza sono invece il MSLT e il MWT, che, come descritto in precedenza, prevedono l'esecuzione di ripetute sessioni poligrafiche nel corso della giornata, misurando rispettivamente la propensione al sonno e l'abilità a mantenere la veglia.

Ad oggi l'ESD rappresenta una delle principali sfide della sanità pubblica, con ripercussioni negative ad ampio spettro sul benessere dell'individuo e della società: decremento del tono dell'umore (Chellappa et al., 2009), impoverimento delle capacità cognitive (Yaffe et al., 2014), incremento della percezione della fatica e del dolore (Philip et al., 2014) e facilitazione dell'insorgenza di patologie mediche (Redline & Foody, 2011). Inoltre, la conseguente riduzione della qualità della vita e delle performance dell'individuo, può arrivare a costituire un elevato rischio di mortalità traducendosi in infortuni sul lavoro, incidenti stradali e incidenti domestici (Li et al., 2014). L'ESD In ambito lavorativo, oltre a determinare l'"errore umano" responsabile di circa il 13% degli infortuni, comporta un maggior assenteismo, calo delle prestazioni e insoddisfazione lavorativa (Uehli et al., 2014). Alla guida, essa provoca il 22% circa degli incidenti stradali (Garbarino et al., 2001), molti dei quali mortali.

Dunque, la spiccata propensione al sonno con assopimenti o veri e propri addormentamenti in contesti non adeguati rappresenta un vero e proprio problema di salute pubblica, oltre che una rilevante disabilità per l'individuo: ne consegue che una tempestiva diagnosi ed un

trattamento mirato risultano necessari ed auspicabili ai fini di arginare i costi sociali ed economici di tale fenomeno.

CAPITOLO 2. STIMOLAZIONE ELETTRICA TRANSCRANICA: EFFETTI MODULATORI SULL'ELETTROFISIOLOGIA CORTICALE SPONTANEA

L'utilizzo delle tecniche di stimolazione cerebrale è basato sulla possibilità di indurre effetti neuromodulatori sul sistema nervoso, a scopi conoscitivi o terapeutici.

L'ampia famiglia di tecniche di stimolazione si classifica principalmente sulla base del grado di invasività delle metodiche utilizzate. Le forme di stimolazione non invasiva si riferiscono a due principali metodiche, differenziate per la strumentazione e per la natura stessa della stimolazione: la stimolazione magnetica transcranica (*Transcranial Magnetic Stimulation*, TMS) e la stimolazione elettrica transcranica (*transcranial Electrical Stimulation*, tES).

La TMS basa il suo principio di funzionamento sul fenomeno di induzione elettromagnetica (legge di Faraday): la corrente elettrica scorre all'interno di una bobina (*coil*) posta sullo scalpo, generando un campo magnetico trasversale, il quale attraversa lo scalpo e induce a sua volta un campo elettrico transitorio nel tessuto cerebrale sottostante la bobina. L'effetto finale consiste nella modulazione dell'eccitabilità dell'area corticale interessata, con risultati variabili in funzione dei parametri di stimolazione utilizzati (frequenza e intensità di stimolazione).

Le tecniche di tES prevedono la diretta applicazione di deboli correnti elettriche sullo scalpo. La corrente, generata attraverso un dispositivo alimentato a batterie (stimolatore), viene erogata mediante due elettrodi di polarità opposte (anodo e catodo) posizionati sullo scalpo. Il passaggio di corrente tra i due elettrodi esercita i suoi effetti neuromodulatori attraversando il tessuto corticale sottostante.

L'utilizzo della stimolazione elettrica cerebrale rappresenta un campo innovativo e all'avanguardia nell'ambito delle neuroscienze, sebbene l'osservazione degli effetti prodotti dal fluire di corrente elettrica attraverso la corteccia cerebrale risale a tempi molto remoti. Già nel 43-48 a.C. il medico romano Scribonius Largus osservò gli effetti terapeutici dell'applicazione di una torpedine viva (pesce elettroforo) sulla testa di pazienti con emicrania. Simili attestazioni vennero riportate da Plinio il Vecchio (23/24- 79 d.C.) e dai medici Claudio Galeno (129-210 d.C.) e Ibn-Sidah (XI secolo), fino ad arrivare alla comprensione più dettagliata dei meccanismi alla base degli effetti osservati e alla conseguente nascita della disciplina elettrofisiologica, grazie agli studi sistematici condotti da Walsh (1773). I successivi lavori di alcuni illustri scienziati italiani (Luigi Galvani, Alessandro Volta), consentirono di approfondire le conoscenze circa le proprietà della

corrente elettrica e i suoi potenziali effetti sul tessuto nervoso, avviando la diffusione dell'utilizzo della stimolazione elettrica in campo clinico. Nel 1804, il fisico Giovanni Aldini dimostrò l'efficacia dell'applicazione di correnti galvaniche nel trattamento della melanconia. L'interesse verso questa tipologia di trattamento venne temporaneamente accantonato in seguito alla scoperta della terapia elettroconvulsiva (ECT), da parte dei neurologi Cerletti e Bini (1938). Ben presto però, l'evidenza di marcati effetti indesiderati, legati all'induzione di convulsioni mediante shock elettrico, ricondusse nuovamente l'attenzione sulle potenzialità offerte da tecniche non invasive di stimolazione, come la tES.

2.1 La tecnica e i protocolli di ricerca

2.1.1 Principi di funzionamento e tipologie di tES

Le moderne tecniche di tES prevedono l'applicazione di corrente elettrica secondo varie modalità, definendo differenti tipologie ed effetti della tES: stimolazione transcranica a corrente continua (*transcranial Direct Current Stimulation*, tDCS), stimolazione transcranica a corrente alternata (*transcranial Alternating Current Stimulation*, tACS), stimolazione transcranica a rumore casuale (*transcranial Random Noise Stimulation*, tRNS).

La tDCS è in grado di modulare la soglia di scarica neuronale spontanea mediante la polarizzazione (modificazione della concentrazione ionica intra- ed extra-cellulare) dei tessuti sottostanti gli elettrodi (Nitsche & Paulus, 2000; Nitsche et al., 2005; Charlotte J Stagg & Nitsche, 2011). Nello specifico, la corrente che entra attraverso il polo positivo (anodo), produce una depolarizzazione delle popolazioni di neuroni sottostanti, viceversa la corrente che fuoriesce dal polo negativo (catodo), induce iperpolarizzazione dei neuroni al di sotto dell'elettrodo (Charlotte J Stagg & Nitsche, 2011). La depolarizzazione e iperpolarizzazione si traducono rispettivamente in incremento e decremento della frequenza di scarica neuronale, con conseguente aumento o diminuzione dell'eccitabilità del tessuto interessato (Bindman, Lippold, & Redfearn, 1962; Purpura & McMurtry, 1965). Nella determinazione dell'effetto finale di modulazione dell'eccitabilità, è necessario inoltre considerare la concomitante polarizzazione degli interneuroni inibitori, presenti superficialmente in corteccia (Nitsche & Paulus, 2000).

Mentre gli effetti *online* della stimolazione sono determinati dall'alterazione della soglia di scarica neuronale, gli effetti *offline*, successivi all'interruzione della stimolazione (*after-effects*), sono da ricondurre a modificazioni plastiche strutturali e funzionali, mediate dai recettori glutammatergici NMDA (N-Metil-D-Aspartato). La somministrazione di dexamethorphan (antagonista dei recettori NMDA), provoca infatti la soppressione degli effetti post-stimolatori della tDCS anodica e catodica, al contrario la carbamazepina (blocco dei canali Na) elimina selettivamente gli effetti della stimolazione anodica (Liebetanz, Nitsche, Tergau, & Paulus, 2002). Alla base delle modificazioni plastiche vi sarebbero i noti meccanismi neurobiologici di potenziamento a lungo termine (*Long Term Potentiation*, LTP) e depressione a lungo termine (*Long Term Depression*, LTD) (Hattori et al., 1990; Islam et al., 1995; Malenka & Nicoll, 1999; Moriwaki, 1991).

In base all'effetto che si desidera produrre (potenziamento o riduzione dell'attività di scarica), si stabilisce quale dei due elettrodi (anodo o catodo) verrà posizionato sull'area *target* e quale, di conseguenza, agirà da elettrodo di riferimento. L'elettrodo di riferimento può essere posizionato sulla testa (referenza cefalica) o sul corpo (referenza extra-cefalica) del soggetto, generalmente su clavicola (Elbert et al., 1981), braccio (Cogiamanian et al., 2007) o gamba (Lippold & Redfearn, 1964).

La distanza tra i due elettrodi gioca un ruolo critico nella determinazione degli effetti della tDCS. Nello studio di Moliadze e collaboratori (2010) è stata confrontata l'efficacia della stimolazione della corteccia motoria primaria nelle due differenti condizioni di montaggio delle referenze (cefalica ed extra-cefalica). È stata osservata una correlazione negativa tra distanza degli elettrodi e potenza e durata dell'effetto: gli autori hanno ipotizzato che maggiore è la distanza tra gli elettrodi, minore è l'entità dell'effetto indotto. Tuttavia, il montaggio bipolare (entrambi gli elettrodi in posizione cefalica) manifesta a sua volta degli evidenti svantaggi: l'elettrodo di riferimento potrebbe produrre delle indesiderate modificazioni dell'eccitabilità della corteccia sottostante, alterando l'effetto mirato di stimolazione anodica o catodica nell'area *target* (Nitsche et al., 2007). La referenza extra-cefalica garantisce dunque una maggiore accuratezza nell'induzione dell'effetto desiderato, a condizione che venga regolata l'intensità di stimolazione in funzione della distanza tra i due elettrodi, così da contrastare la riduzione dell'*after-effect* (Moliadze et al., 2010). Nel montaggio con referenza extra-cefalica, è necessario inoltre considerare la possibile interferenza con il sistema nervoso autonomo, in seguito alla eventuale stimolazione indiretta del tronco encefalico (Lippold & Redfearn, 1964).

Il posizionamento degli elettrodi di stimolazione in determinate aree piuttosto che altre, influenza l'orientamento del campo elettrico in virtù delle proprietà fisiche di quella stessa area (Datta, 2012; Opitz et al., 2015), modulando gli effetti della stimolazione. Inoltre, parte del flusso di corrente erogata viene dispersa attraverso la superficie dello scalpo senza raggiungere l'area corticale bersaglio, a causa della presenza di evidenti barriere anatomiche quali spessore del cranio, liquido cerebrospinale, geometria delle circonvoluzioni cerebrali (Vöröslakos et al., 2018). Allo scopo di arginare tale limitazione possono essere utilizzati diversi modelli computerizzati (da modelli a sfera a modelli individualizzati) della distribuzione di corrente intracranica associata al set di elettrodi prescelto (Miranda et al., 2006; Ruffini et al., 2014), così da predire ed eventualmente ottimizzare l'efficacia della stimolazione.

Oltre alla disposizione, anche la dimensione degli elettrodi concorre a determinare la distribuzione spaziale della corrente. La superficie degli elettrodi è indirettamente proporzionale alla densità di corrente (Ampere/centimetro quadrato, A/cm^2), ne consegue che aumentando la grandezza dell'elettrodo (cm^2) e mantenendo costante l'intensità di corrente (A), si riduca l'effetto di stimolazione. Nitsche e collaboratori (2007) hanno condotto un esperimento volto ad indagare gli effetti della tDCS in relazione alla grandezza degli elettrodi, di stimolazione e di riferimento. La diminuzione della superficie dell'elettrodo di stimolazione è risultata correlata ad una maggiore risoluzione focale, in assenza di significativa alterazione dell'entità dell'effetto riscontrato: l'elettrodo di 3.5 cm^2 ha esercitato i suoi effetti specificatamente sull'attivazione del muscolo ADM (*abductor digiti minimi*) (rappresentato in corteccia dalla corrispettiva area *target* stimolata), contrariamente agli effetti prodotti dall'elettrodo di 35 cm^2 , estesi anche al muscolo FDI (*first dorsal interosseous*). Viceversa, l'incremento della superficie dell'elettrodo di riferimento ha prodotto una diminuzione dell'efficacia funzionale del suo effetto, a parità di intensità di corrente.

Dunque, la risoluzione spaziale della tDCS aumenta in seguito alla riduzione della grandezza degli elettrodi di stimolazione (focalizzazione degli effetti desiderati) e all'incremento della grandezza degli elettrodi di riferimento (diminuzione degli effetti indesiderati). Recentemente, sono state proposte innovative tipologie di elettrodi concentrici (CE-tDCS) (Bortoletto et al., 2016; Datta, 2012) o con disposizione circolare ad *array* (*High-Definition*, HD-tDCS) (Villamar et al., 2013), in cui l'elettrodo attivo è circondato da elettrodi di riferimento, garantendo una maggiore focalità degli effetti prodotti.

La possibilità di ottenere dei risultati mirati, contribuisce al potenziale utilizzo della tecnica anche in patologie come epilessia o emicrania, per le quali è fondamentale accertare l'assenza di possibili effetti collaterali (Nitsche et al., 2007).

Intensità e durata della stimolazione rappresentano due ulteriori parametri essenziali nella modulazione degli effetti (*online* e *offline*) esercitati dalla tDCS. Una stimolazione della durata di circa 10-30 minuti è in grado di produrre effetti che si protraggono fino a 5 ore dopo la stimolazione (Nitsche & Paulus, 2000). Con appropriati interventi farmacologici, la durata degli effetti può essere ulteriormente estesa (Nitsche et al., 2004).

L'intensità di stimolazione (nell'ordine di milliampere, mA) può essa stessa contribuire alla facilitazione o alla riduzione dell'eccitabilità corticale, principalmente determinata dalla polarità dell'elettrodo: deboli correnti elettriche agiscono superficialmente, a livello degli interneuroni inibitori della superficie corticale, correnti più intense possono invece giungere più in profondità, fino al soma dei neuroni piramidali corticali (Nitsche & Paulus, 2001), in modalità strettamente dipendente dalla tipologia di montaggio utilizzata. Per indurre effetti prolungati è necessario che la stimolazione duri almeno 3-5 minuti e presenti intensità pari ad almeno 1 mA (Priori, 2003).

Horvath e collaboratori, in una recente trattazione (Horvath et al., 2015), passano in rassegna alcuni aspetti metodologici da tenere in considerazione riguardo l'utilizzo della tDCS. In primo luogo, dall'analisi della letteratura scientifica, emerge un'elevata variabilità intrasoggettiva negli effetti indotti da tDCS, dovuta essenzialmente all'impossibilità di replicare con esattezza lo stesso paradigma sperimentale (Herwig et al., 2001) e alla risposta differenziata di ciascun soggetto alla stimolazione effettuata (Datta, 2012; Truong et al., 2013). Alcuni studi dimostrano inoltre che semplici attività mentali o motorie eseguite durante la stimolazione, possano creare interferenza con gli effetti della stimolazione stessa, compromettendo l'affidabilità dei risultati ottenuti (Antal et al., 2007; Quartarone et al., 2004). Infine, il passaggio di corrente elettrica attraverso lo scalpo si scontra necessariamente una serie di impedimenti fisici, come il cuoio capelluto o la sudorazione della pelle (Dawson et al., 2007). A tali impedimenti è possibile far fronte mediante la facilitazione della trasmissione di corrente elettrica attraverso alcuni accorgimenti nel montaggio degli elettrodi (Paulus, 2011). In particolare, gli elettrodi vengono inseriti in spugne imbevute di acqua e posti in contatto con lo scalpo mediante l'utilizzo di soluzione salina o gel conduttivo, incrementando in tal modo la loro capacità di conduzione (Horvath et al., 2015).

La tDCS rappresenta una metodica sicura e priva di rischi, se correttamente eseguita secondo le procedure standard sperimentali. Durata e intensità di stimolazione rappresentano i due fondamentali fattori da considerare nella definizione di una procedura sicura e priva di rischi: intensità <4 mA per una durata fino a 60 minuti al giorno (Antal et al., 2017).

Nessun accumulo di enolasi neurone specifica (*marker* di danneggiamento neurale) è stato rintracciato in seguito a somministrazione di tDCS (Nitsche & Paulus, 2001). Studi di risonanza magnetica hanno inoltre dimostrato l'assenza di edema o alterazioni strutturali a livello della barriera emato-encefalica o del tessuto cerebrale, in seguito all'esposizione di deboli correnti elettriche (Nitsche et al., 2004).

Gli effetti della tDCS nell'uomo possono essere esplorati mediante studi combinati o simultanei con altre tecniche (di stimolazione, elettrofisiologiche, di *neuroimaging*, comportamentali), al fine di ottenere informazioni convergenti sul fenomeno indagato.

Una comprensione più dettagliata dei meccanismi neurali sottesi ai cambiamenti indotti dalla tES è consentita dall'utilizzo integrato di tecniche di stimolazione e tecniche di registrazione EEG. L'EEG può essere utilizzato simultaneamente (approccio *online*) o in combinazione (approccio *offline*) con le metodiche di stimolazione.

I primi studi di tDCS, interessati alla modulazione dell'eccitabilità di aree motorie e premotorie, hanno utilizzato come variabile dipendente l'ampiezza (mV) dei potenziali evocati motori (*Motor Evoked Potentials*, MEPs), indotti da stimolazione TMS in area M1 (Priori et al., 1998). I MEPs rappresentano le risposte motorie (EMG) a determinati stimoli (*pulse* di TMS), registrate mediante l'applicazione di elettrodi in corrispondenza di alcuni muscoli (generalmente della mano, p.e., FDI, ADM). Poiché l'ampiezza dei MEPs è in funzione del tempo di conduzione del segnale motorio, essa è considerata un valido indice delle eventuali modulazioni di eccitabilità corticale. Le metodiche di neurimmagine (*Positron Emission Tomography*, PET; *Single Photon Emission-Computed Tomography*, SPECT; *functional Magnetic Resonance Imaging*, fMRI; *functional Near-Infrared Spectroscopy*, NIRS) consentono di osservare le variazioni emodinamiche e metaboliche associate alla maggiore o minore attivazione indotta da tDCS in una determinata area. L'incremento dell'attività metabolica, misurato mediante la tecnica PET, è stato osservato in corrispondenza del tessuto cerebrale sottostante l'area di stimolazione (Lang et al., 2005). La NIRS è una tecnica che consente di misurare in maniera non invasiva il livello di ossigenazione del sangue nei tessuti corticali. Attraverso il suo utilizzo, è stato possibile osservare un incremento locale della concentrazione di ossiemoglobina (HbO₂) in tessuti

sottoposti a stimolazione anodica, al contrario, variazioni trascurabili sono state osservate in seguito a stimolazione catodica (Merzagora et al., 2010). La maggiore richiesta di sangue ossigenato nell'area stimolata rappresenta la diretta conseguenza dell'elevato consumo energetico provocato dall'incrementata attività neuronale. La possibilità di incrementare l'apporto di ossigeno nelle regioni corticali stimolate, potrebbe inoltre facilitare l'eliminazione di sostanze "neurotossiche" in pazienti *post-stroke* o con malattie neurodegenerative (Merzagora et al., 2010).

La tACS, si differenzia dalla tDCS in quanto prevede l'erogazione di corrente alternata a specifiche frequenze (onde sinusoidali). Di conseguenza, il parametro maggiormente determinante nella generazione degli effetti non è più costituito dalla polarità sovrainposta dalla corrente continua (tDCS), bensì dallo specifico *range* di frequenza di stimolazione utilizzato (tACS). Se dunque mediante tDCS è possibile modulare l'eccitabilità della corteccia cerebrale agendo sui meccanismi di polarizzazione del potenziale di membrana a riposo, si ipotizza che la tACS consenta di interagire con l'attività ritmica cerebrale.

Per intervenire sull'elettrofisiologia spontanea attraverso l'induzione artificiale di determinate frequenze oscillatorie, è possibile utilizzare due particolari tecniche di stimolazione oscillatoria: la tACS e la tDCS oscillatoria (*osc-tDCS*). La *osc-tDCS* rappresenta una forma di stimolazione in cui vengono combinate le due differenti modalità di erogazione della corrente: continua e alternata. In questo modo è possibile regolare sia la polarità che la frequenza di stimolazione, massimizzando le potenzialità esplorative della tecnica. Per comprendere la possibilità della *osc-tDCS* di interagire con l'attività oscillatoria endogena, è necessario far riferimento ad alcuni principi fisici di base.

La stimolazione oscillatoria è basata sul fenomeno fisico di "risposta in frequenza", ovvero sulla naturale tendenza di un sistema oscillante (cervello) a sintonizzare la propria frequenza di oscillazione con quella di uno stimolo periodico con cui è in contatto (stimolazione elettrica). Se un sistema oscillante viene sottoposto a sollecitazione periodica di frequenza pari o simile all'oscillazione propria del sistema stesso, l'effetto di trascinamento (*entrainment*) sarà maggiore. Da un punto di vista neurale, sinapsi con frequenza di scarica simile a quella di un *input* ripetitivo esterno si rafforzano, manifestando modificazioni plastiche in grado di mantenersi nel tempo successivo alla stimolazione (Chan & Nicholson, 1986).

Alla luce dell'esistenza dei principi fisici descritti, ne consegue che gli effetti della stimolazione sull'attività oscillatoria corticale dipendano in maniera critica da due fattori:

lo stato intrinseco di oscillazione cerebrale al momento della stimolazione (*state-dependent*) e la frequenza di stimolazione utilizzata (*frequency-dependent*).

La rilevanza della frequenza di stimolazione utilizzata è dimostrata empiricamente nello studio di Feurra e collaboratori (Feurra et al., 2011). L'applicazione di tACS su corteccia motoria ha incrementato l'ampiezza dei MEPs registrati solo nel caso di frequenza di stimolazione impostata a 20 Hz (beta-tACS), viceversa nessuna modulazione del segnale MEP è avvenuta in corrispondenza di differenti frequenze di stimolazione. Il fenomeno è spiegato in virtù del fatto che la frequenza efficace di stimolazione (20 Hz), coincide con la frequenza naturale esibita dalla corteccia motoria in condizioni di riposo (attività beta), consentendo il verificarsi del fenomeno di risonanza in frequenza e del conseguente incremento di eccitabilità cortico- spinale. In un successivo esperimento, Feurra e colleghi (Feurra et al., 2013) hanno replicato il paradigma precedente manipolando le condizioni di attivazione corticale di base durante la stimolazione. Nel caso di stimolazione in condizione di riposo sono stati confermati i precedenti risultati, la stimolazione maggiormente efficace nella modulazione dell'eccitabilità corticale è stata infatti la beta-tACS; tuttavia, nel caso di stimolazione concomitante all'esecuzione di un compito di *motor imagery*, la stimolazione più efficace si è rivelata la theta-tACS. L'esecuzione del compito mentale è associata infatti ad una desincronizzazione del ritmo beta, seguita da un incremento del ritmo theta nelle aree motorie, connesso al reclutamento delle risorse cognitive (mnestiche e attentive) richieste dal compito (Düzel et al., 2010; Sauseng et al., 2010).

In sintesi, la stimolazione oscillatoria è in grado di esercitare i suoi effetti modulatori sul *timing* di scarica neuronale mediante due differenti modalità: attraverso la risonanza in frequenza dell'attività oscillatoria in corso (effetto di sincronizzazione) (Thut et al., 2011), o attraverso l'interferenza con tale attività (effetto di desincronizzazione) (Brittain et al., 2013). Le oscillazioni cerebrali sono ubiquitarie nel cervello umano, con frequenze variabili da ultra-lente (0.05 Hz) a ultra-rapide (500 Hz) (Buzsáki & Draguhn, 2004; Ward, 2003). La frequenza di oscillazione è modulata dalla specifica attività cognitiva/comportamentale in corso (Buzsáki & Wang, 2012): dunque mediante tACS o osc-tDCS è possibile interferire con tali attività, inducendo artificialmente specifiche frequenze EEG. Secondo le più recenti teorie, le popolazioni neuronali comunicherebbero mediante oscillazioni temporalmente accoppiate, definendo veri e propri network oscillatori corticali (Thut & Miniussi, 2009). Patologie quali la schizofrenia, sembrerebbero associate ad aberrazioni nell'organizzazioni di tali network (Uhlhaas &

Singer, 2012), probabilmente dovute a deficit nella connettività funzionale tra le diverse aree (Zalesky et al., 2011). La somministrazione di tACS consente lo sviluppo interventi finalizzati all'accoppiamento o al disaccoppiamento dell'attività oscillatoria di specifiche regioni cerebrali, sincronizzando (o desincronizzando) l'attività neuronale compresa tra regioni cerebrali *target*.

La tACS si è rivelata inoltre in grado di esercitare effetti significativi sulla modulazione dell'eccitabilità corticale, delle oscillazioni EEG e dei processi cognitivi (Antal & Paulus, 2013; Herrmann et al., 2013; Thut et al., 2017; Vosskuhl et al., 2018). Il dosaggio tradizionale della tACS prevede frequenze che variano dai 10 ai 40 Hz, con intensità di corrente compresa tra 0.4 e 1 mA (Tavakoli & Yun, 2017).

Specialmente nel contesto della stimolazione oscillatoria, la possibilità di utilizzare un approccio simultaneo con l'EEG permette di agire efficacemente sulle dinamiche dell'attività cerebrale al momento della stimolazione. Innovative tecniche di stimolazione consentono di sincronizzare le tempistiche della stimolazione con la specifica attività EEG in corso (*feedback-controlled*), offrendo la possibilità di generare circuiti di autoregolazione (*closed-loop*) in grado di potenziare uno specifico stato oscillatorio cerebrale (Dmochowski et al., 2017).

2.1.2 Effetti della tES su funzioni cognitive, motorie e sensoriali

Gli effetti della tES si estendono ad una vasta gamma di funzioni cerebrali, in maniera dipendente dalla specifica regione corticale stimolata.

Le prime osservazioni indirette circa gli effetti indotti da tDCS vennero condotte da Lippold e Redfearn (1964), i quali descrissero incrementati livelli di allerta, umore e attività motoria in seguito a somministrazione di tDCS anodica, contrariamente a stati di quiescenza e apatia conseguenti a stimolazione catodica (Priori, 2003).

L'introduzione dell'utilizzo dei MEPs nella valutazione oggettiva dell'efficacia della tES (Priori et al., 1998), ha avviato una serie di studi sistematici volti ad indagare la specifica modulazione dell'eccitabilità della corteccia motoria, mediante l'induzione di correnti elettriche attraverso lo scalpo. In particolare, viene considerato come indice di eccitazione del sistema corticospinale l'ampiezza (mV) dei MEPs, direttamente proporzionale all'attivazione della rappresentazione corticospinale del muscolo dal quale il MEP è registrato.

Nitsche e Paulus (2000) hanno confrontato le risposte motorie evocate da TMS precedenti e successive al passaggio di corrente, osservando un incremento del 40% dell'ampiezza relativo ai MEPs registrati in seguito a stimolazione anodica, viceversa un decremento di ampiezza del 30% ha caratterizzato i MEPs successivi a stimolazione catodica. Sebbene gli effetti di eccitazione siano a carico della corteccia motoria, non è da escludere l'addizionale effetto di attivazione spinale, mediato dalle connessioni neurali piramidali.

Apparentemente, i risultati riportati da Nitsche e collaboratori appaiono discordi con quelli del pionieristico studio condotto da Priori (1998), nel quale in seguito a stimolazione anodica è stata osservata una diminuzione, piuttosto che un incremento, dell'ampiezza dei MEPs registrati. Tali discordanze sono ricondotte alla differente intensità di stimolazione utilizzata nei due studi (0.5 mA e 1 mA). L'intensità della stimolazione è infatti un parametro essenziale nella determinazione del risultato finale, in quanto implica siti e meccanismi d'azione differenziati: deboli correnti elettriche agiscono principalmente su popolazioni di interneuroni inibitori sulla superficie corticale, producendo un generico effetto di restrizione dell'ampiezza dei MEPs; viceversa stimolazioni più intense sono in grado di diffondersi in profondità, a livello del corpo cellulare delle cellule piramidali, facilitando la frequenza di scarica di tali cellule (Nitsche & Paulus, 2001).

Gli effetti a lungo termine della stimolazione sulla soglia di elicitazione della risposta motoria (MEPs) hanno mostrato un decremento lineare nel tempo riferito a stimolazione anodica e diversamente un brusco decremento degli effetti della stimolazione catodica, con un rapido ripristino dei valori di *baseline* (dopo circa 5 minuti) (Nitsche & Paulus, 2000).

Reis e collaboratori (Reis et al., 2013) hanno indagato gli effetti della tDCS sul consolidamento di abilità visuo- motorie, dimostrando l'efficacia della tecnica anche in relazione ai processi di apprendimento. L'applicazione di tDCS anodica sulla corteccia motoria è stata effettuata durante 3 giorni consecutivi di *training* su un determinato compito visuomotorio (*Sequential Visual Isometric Pinch Task*, SVIPT) (Reis et al., 2009).

I soggetti esposti a stimolazione hanno manifestato un livello di apprendimento significativamente superiore ai soggetti di controllo, enfatizzando il benefico effetto cumulativo del *training* appaiato a tDCS. Il potenziamento delle *performance* di apprendimento è da ricondurre, secondo gli Autori, alla capacità della tDCS di facilitare il consolidamento delle informazioni nelle fasi che intercorrono tra le varie sessioni di *training*, generalmente caratterizzate da una parziale perdita delle abilità precedentemente acquisite. Tale ipotesi è confermata dall'assenza di miglioramento verificata in seguito a somministrazione di tDCS successiva alla fase di *training*.

Il progressivo consolidamento delle sequenze implicite apprese, illustrato dall'analisi del *time course*, è stato osservato in funzione dello scorrere del tempo, indipendentemente dalla presenza o assenza di sonno, confermando i risultati di studi precedenti (Hotermans, et al., 2008; Song et al., 2007). L'applicazione di stimolazione elettrica per più giorni di *training* può comportare dunque uno stabile miglioramento delle *performance*, in grado di perdurare fino a diversi mesi (Reis et al., 2009).

La corteccia prefrontale, insieme a quella motoria, rappresenta una delle regioni maggiormente utilizzate come bersaglio della stimolazione, in virtù del suo ruolo centrale in numerosi ambiti del funzionamento cognitivo e comportamentale, in quanto sede delle funzioni esecutive.

Fregni e collaboratori (2005) hanno illustrati significativi effetti di miglioramento indotti da stimolazione anodica a carico della corteccia prefrontale dorsolaterale (dlPFC) in compiti di *working memory*, come riscontrato anche in studi recenti (Hill et al., 2016; Mancuso et al., 2016).

Gli effetti della tDCS sulle funzioni cognitive, si estendono inoltre fino alla possibilità di influenzare i processi decisionali, come dimostrato nello studio di Mengarelli e collaboratori (Mengarelli et al., 2013). In questo studio, la somministrazione di tDCS catodica sulla dlPFC di sinistra, ma non su quella di destra, ha causato la riduzione del fenomeno di dissonanza cognitiva. Il maggior coinvolgimento dell'emisfero sinistro sarebbe dovuto al suo ruolo essenziale nei processi di razionalizzazione e controllo di sé (Berkman & Lieberman, 2009; Gazzaniga et al., 1996). Secondo la teoria della dissonanza cognitiva (Festinger, 1957), scaturita dalla necessità di scegliere tra due opzioni ugualmente appetibili, il conflitto cognitivo condurrebbe l'individuo a riconsiderare l'opzione scelta come più desiderabile, al fine di ridurre la dissonanza e mantenere un certo grado di coerenza comportamentale. Tale processo cognitivo sembrerebbe richiedere l'attivazione della dlPFC (Botvinick et al., 2001), coinvolta nell'implementazione del controllo e nella risoluzione del conflitto. Grazie alla manipolazione di tale area mediante tDCS (Mengarelli et al., 2013) è stato possibile dimostrare il suo ruolo causale nella manifestazione del fenomeno di dissonanza cognitiva in un paradigma di libera scelta, annullata in seguito a stimolazione catodica.

Sempre nell'ambito del *decision making*, la tDCS ha dimostrato la sua efficacia nell'influenzare i comportamenti decisionali di natura sociale, relativi ad assunzione di rischi (Boggio et al., 2010; Fecteau, Knoch, et al., 2007), propensione all'inganno (Karim et al., 2009) e dilemmi morali (Knoch et al., 2006).

Studi di TMS e tDCS hanno illustrato il coinvolgimento della dlPFC in compiti di decisione morale (p.e., *Ultimatum Game*) (Knoch et al., 2006), nei quali il giudizio è in grado di generare un conflitto fra norme "etiche" e norme "individuali".

Nell'esperimento condotto da Fumagalli e collaboratori (Fumagalli et al., 2010) è stata osservata un'alterazione del comportamento utilitaristico adottato in un compito di decisione morale, a seguito di stimolazione della tDCS (sia anodica che catodica) sulla corteccia prefrontale ventromediale (vmPFC). Tale alterazione ha prodotto dei risultati differenziati in funzione del genere dei soggetti e della polarità di stimolazione: la stimolazione anodica ha comportato un decisivo aumento del numero di risposte utilitaristiche nel campione femminile; la stimolazione catodica è stata invece associata ad una lieve diminuzione dei tempi di risposta per decisioni utilitaristiche in entrambi i generi. I risultati sembrerebbero spiegati da una maggiore abilità empatica associata al genere femminile (Eisenberg, 2005), e dalla tendenza all'aggressività fisica e verbale preponderante nel genere maschile (Archer, 2004).

La scelta della vmPFC come sito d'azione della tDCS, è legata al fatto che tale struttura, filogeneticamente più antica della dlPFC (Wallis, 2007), è notevolmente correlata ai meccanismi di sopravvivenza e difesa degli interessi individuali. Di conseguenza, la stimolazione anodica e catodica di tale area comporta un comune effetto di incremento dei comportamenti utilitaristici, maggiormente incisivo nel caso di stimolazione anodica. Un possibile meccanismo attraverso cui la tDCS potrebbe aver esercitato i suoi effetti, si riferisce all'eventuale incremento nella PFC dei livelli di dopamina, neurotrasmettitore coinvolto nei meccanismi decisionali e di ricompensa, sensibile agli effetti indotti da stimolazione (Nitsche et al., 2006).

Fecteau e collaboratori (Fecteau et al., 2007) hanno osservato che la stimolazione anodica della dlPFC ha indotto i soggetti a porre maggiore cautela nelle loro scelte, in un paradigma comportamentale di *risk taking* (*The Balloon Analogue Risk Task*, BART). Inoltre, tali effetti si sono manifestati in direzione opposta in un campione di soggetti anziani, maggiormente propensi all'assunzione di rischi (Fecteau et al., 2007).

Anche la modalità di stimolazione a corrente alternata (tACS) ha esercitato effetti modulatori rispetto all'esecuzione di compiti percettivi (Kanai et al., 2008; Schutter & Hortensius, 2011), motori (Brinkman et al., 2016; Brittain et al., 2013; Pogosyan et al., 2009) e cognitivi (Alekseichuk et al., 2016; Marshall et al., 2006; Santarnecchi et al., 2013; Sela et al., 2012). Nello studio di Antal e collaboratori (Antal et al., 2008), la somministrazione di tACS in corrispondenza della corteccia motoria, pur non causando

significative variazioni dell'ampiezza del MEPs registrati, ha comportato un miglioramento della *performance* in un compito motorio di apprendimento implicito.

Nel loro insieme, i risultati descritti confermano le ipotesi secondo cui la tES rappresenterebbe uno dei più promettenti approcci nell'ambito del potenziamento cognitivo (*neuroenhancement*), grazie alla possibilità di determinare notevoli incrementi delle *performance* in varie tipologie di compiti. L'idea di utilizzare strumenti di *neuroenhancement* al fine di ottimizzare le prestazioni lavorative (neuroergonomia) è stata inizialmente proposta da Parasuraman e Rizzo (2008). Gli effetti del potenziamento cognitivo da parte di tecniche di stimolazione cerebrale (TMS, tDCS) sono stati dimostrati in riferimento a compiti semplici, come quelli di denominazione di figure (Mottaghy et al., 2006), memoria fonologica (Kirschen et al., 2006), *working memory* (Luber et al., 2008) e fluidità verbale (Wassermann & Grafman, 2005), e a compiti più complessi, come la detezione e il riconoscimento di stimoli (Clark et al., 2012) o prove di ragionamento analogico (Borojerdi et al., 2001).

La possibilità di agire sui meccanismi di neuroplasticità cerebrale in maniera efficace e poco invasiva ha convalidato l'utilizzo delle tES a scopi terapeutici, in particolar modo per quanto riguarda il trattamento del disturbo depressivo. Le indagini circa gli effetti della tDCS sul tono dell'umore risalgono agli esperimenti di Lippold e Redfearn (1964), nei quali venne dimostrato un incremento dell'allerta e del tono dell'umore in seguito a stimolazione anodica, in opposizione al rallentamento, isolamento e abbassamento del tono umorale conseguenti a stimolazione catodica. Ulteriori studi vennero successivamente condotti attestando simili risultati (Baker, 1970; Carney et al., 1970; Costain et al., 1964; Nias & Shapiro, 1974). Questi primi studi sono caratterizzati tuttavia da un elevato grado di variabilità intersoggettiva nella risposta agli effetti della stimolazione. Tale fenomeno sembrerebbe causato dalla disomogeneità della popolazione di pazienti considerata, oltre che dalla stimolazione indifferenziata a carico dei due emisferi. In linea con l'ipotesi di una condizione di ipoattivazione della PFC di sinistra concomitante ad una iperattivazione della PFC di destra in questa tipologia di pazienti (Grimm et al., 2008), i moderni studi illustrano significativi effetti terapeutici in seguito a stimolazione anodica della dlPFC di sinistra o a stimolazione catodica della dlPFC di destra (Boggio et al., 2010; Fregni et al., 2006). L'*effect-size* del trattamento depressivo con tDCS risulta comparabile a quello dei farmaci antidepressivi (Rigonatti et al., 2008); inoltre, l'azione rapida della stimolazione fornisce una possibilità di trattamento immediato, in attesa della comparsa più tardiva dell'effetto dei farmaci (Kuo et al., 2016; Lefaucher et al., 2017).

L'utilizzo terapeutico della tDCS si estende a tutte le patologie psichiatriche che prevedono una disregolazione funzionale a carico di particolari aree cerebrali, quali schizofrenia, ADHD, disturbo ossessivo-compulsivo e disturbo di panico (Moffa et al., 2018).

Per quanto riguarda le patologie di origine neurologica, l'efficacia della stimolazione transcranica è stata dimostrata relativamente al recupero cognitivo in pazienti *post-stroke* (Schjetnan et al., 2013) o ai disturbi di Parkinson (Lee et al., 2006), Alzheimer (Pellicciari & Miniussi, 2018), epilessia (Gschwind & Seeck, 2016), dolore cronico (O'Connell et al., 2018) ed emicrania (Shirahige et al. 2016).

La tACS, non agendo in maniera mirata su specifiche regioni cerebrali, risulta meno impiegata a scopi terapeutici: tuttavia, la sua capacità di interagire con l'attività ritmica cerebrale rappresenta un potenziale trattamento per tutti quei deficit caratterizzati da specifici squilibri nei pattern di attivazione EEG. Aberrazioni nell'attività oscillatoria di specifiche bande di frequenza sono state riscontrate in pazienti con disturbo depressivo (attività theta), Alzheimer (attività alpha), epilessia (attività beta) e schizofrenia (attività gamma) (Hanslmayr et al., 2005; Linkenkaer-Hansen et al., 2005; Parish et al., 2004; Uhlhaas & Singer, 2006).

Alla base degli effetti della stimolazione su specifiche attività cognitivo/comportamentali, vi sarebbe un meccanismo di rafforzamento delle interconnessioni funzionali tra differenti aree corticali coinvolte nell'esecuzione del compito. Nello studio di Polania (Polania et al., 2011), utilizzando un modello topografico di coerenza spettrale tra le differenti bande di attività EEG, sono state ricostruite le reti di attivazione funzionale durante l'esecuzione di un compito motorio. Successivamente, è stata confrontata l'organizzazione funzionale topografica precedente e successive alla somministrazione di tDCS anodica sulla corteccia motoria primaria. Dai risultati è emerso un significativo incremento della connettività funzionale tra aree motorie, sensorimotorie e premotorie, dimostrato dall'aumentata sincronizzazione di tali aree relativamente alle bande di attività theta e alpha.

Lo studio di Polania dimostra l'abilità della tDCS di influenzare le prestazioni ad un compito agendo non solo a livello regionale (eccitabilità della specifica area stimolata), ma anche a livello di network cerebrale (connettività tra aree cerebrali distanti) (Yavari et al., 2017). Kirimoto e collaboratori (2011) hanno confermato la possibilità di rafforzare la connettività tra aree cerebrali distanti mediante tDCS. È stata infatti osservata una modulazione dell'eccitabilità delle cortecce motoria e somatosensoriale, in seguito a stimolazione dell'area supplementare motoria ipsilaterale.

Alterazioni della connettività funzionale in seguito a somministrazione di tDCS sono stati riscontrati anche in studi condotti con differenti tecniche d'indagine e siti di stimolazione. Keeser e collaboratori (2011) hanno osservato gli effetti della tDCS anodica su dlPFC sulla connettività funzionale a riposo, relativa a differenti network cerebrali.

Quattro principali configurazioni di network a riposo (*Resting State Networks*, RSNs) sono state individuati nello studio mediante fMRI: *Default Mode Network* (DMN), *Frontal-Parietal Network* (FPN) sinistro e destro e *Self-Referential Network* (SRN). Rispetto ai livelli *baseline* di connettività riscontrati in tali network, la stimolazione anodica ha comportato un notevole incremento dei livelli di connettività all'interno dei network coinvolti nell'esecuzione di funzioni cognitive di ordine superiore (DMN, FPN sinistro e destro), confermando i risultati di studi precedenti (Baudewig et al., 2001; Kwon et al., 2008; Stagg et al., 2009). La capacità della tDCS di agire sulla connettività funzionale tra aree cerebrali, giustifica l'ampio spettro di funzioni cognitive e comportamentali modulate dall'utilizzo di tale tecnica.

La tES offre dunque la possibilità di intervenire sui meccanismi di neuroplasticità cerebrale in maniera non invasiva, indolore, reversibile e selettiva, costituendo una tecnica valida ed efficace sia dal punto di vista del potenziamento di meccanismi fisiologici adattivi, sia in merito al trattamento di determinate manifestazioni patologiche.

Un ulteriore ambito applicativo delle tES riguarda la possibilità di utilizzare tali tecniche in combinazione con l'EEG al fine di chiarire la natura della relazione tra una determinata attività cognitiva o comportamentale in corso e la sottostante attività elettrofisiologica.

Stante il fatto che le frequenze EEG non rappresentano dei meri epifenomeni di processi neurali sottostanti (Thut & Miniussi, 2009), ne consegue che l'induzione artificiale di frequenze biologicamente rilevanti mediante stimolazione si traduca nella variazione delle *performance* in esecuzione.

Schutter e Hortensius (2011), in un primo esperimento, hanno mostrato che l'induzione di MEPs mediante TMS è parallela ad un incremento dei ritmi theta e beta in corrispondenza delle aree corticali motorie stimulate. In un successivo esperimento, alla luce di tali risultati, è stata somministrata tACS a differenti bande di frequenza, per poi osservarne l'effetto sulla modulazione dell'ampiezza dei MEPs. Come ipotizzato, le stimolazioni tACS a frequenze theta e beta sono risultate le più efficaci: tali ritmi in aree corticali motorie contribuiscono infatti all'attivazione del tratto cortico- spinale. In particolare, la theta-tACS ha prodotto effetti *offline* maggiormente duraturi, confermando la possibilità di un utilizzo

del protocollo di TMS ripetuta a frequenze theta, definita appunto stimolazione "theta burst" (TBS) (Huang et al., 2005).

Pellicciari e collaboratori (Pellicciari et al., 2013), utilizzando un approccio sperimentale multimodale, hanno investigato gli effetti della tDCS sul sistema motorio mediante l'osservazione dei cambiamenti indotti nell'elettrofisiologia spontanea, nelle prestazioni ad un *task* comportamentale e nell'ampiezza dei MEPs o dei potenziali corticali (TMS evoked potential, TEPs) evocati da TMS. Confermando la letteratura precedente, dall'analisi dei segnali MEPs e TEPs è emerso un incremento dell'eccitabilità corticale in seguito a stimolazione anodica, in opposizione al decremento indotto da stimolazione catodica. Relativamente alle risposte elettrofisiologiche e comportamentali, non è stato invece osservato alcun effetto della polarità di stimolazione. Nello specifico, la stimolazione ha comportato un generico incremento della potenza spettrale relativo alle bande EEG theta ed alpha. Tali risultati sembrerebbero indicare una maggiore sensibilità dei potenziali evocati motori e corticali nel cogliere le variazioni associate a stimolazione tDCS, viceversa l'analisi delle variazioni di attività oscillatoria EEG risulta maggiormente indicata per la valutazione degli effetti della tACS.

Un approccio combinato di TMS-EEG per la valutazione degli effetti della tDCS è stato applicato anche da Lauro e collaboratori (Lauro et al., 2014), utilizzando come sito di stimolazione la corteccia parietale posteriore (PCC), criticamente implicata in numerose funzioni cognitive e sensorimotorie (Andersen & Cui, 2009). Per ogni sessione sperimentale effettuata è stato calcolato un indice di eccitabilità corticale globale e locale (*Global Mean Field Power*, GMFP; *Local Mean Field Power* LMFP), sulla base della natura dei segnali TEPs rilevati. Mentre l'eccitabilità corticale globale è andata incontro ad un diffuso incremento sia durante che dopo la stimolazione, l'indice di eccitabilità corticale locale ha indicato un incremento successivo alla stimolazione in aree corticali bilaterali sia parietali che frontali, confermando gli effetti della tDCS anche in aree distanti dai siti di stimolazione (Polanía et al., 2011).

L'applicazione di tACS su corteccia motoria a frequenze compatibili con determinate bande EEG, ha inoltre prodotto effetti di rallentamento (beta-tACS) o velocizzazione (gamma-tACS) dell'esecuzione di movimenti volontari (Joundi et al., 2012).

Moliadze e collaboratori (Moliadze et al., 2010) hanno testato gli effetti della tACS somministrata a frequenze diverse dalle tradizionali bande EEG, osservando un sostenuto incremento di eccitabilità (fino ad un'ora dopo la stimolazione) a seguito di stimolazione a

140 Hz: in questo caso l'effetto è attribuito all'alterazione di eccitabilità delle membrane neuronali, piuttosto che al tipico fenomeno di *entrainment*.

Alcuni studi hanno indagato gli effetti della stimolazione oscillatoria a frequenze rilevanti nell'alterazione dei fenomeni percettivi di natura uditiva, tattile e visiva. Neuling e collaboratori (2012) hanno dimostrato la relazione causale tra oscillazioni cerebrali spontanee e processi percettivi, mediante la manipolazione di tali oscillazioni attraverso l'induzione di alpha-tDCS. L'applicazione di osc-tDCS su corteccia uditiva a frequenza alpha ha determinato l'incremento di potenza spettrale di tale ritmo cerebrale e la conseguente modulazione della soglia di detezione degli stimoli uditivi presentati. Utilizzando un modello realistico delle dinamiche del flusso di corrente nei differenti compartimenti di tessuto cerebrale, è stata confermata la maggiore densità di corrente in corrispondenza dell'area compresa tra le cortecce uditive.

In riferimento alle modulazioni di percezioni tattili, Feurra e collaboratori (Feurra et al., 2011) hanno osservato gli effetti tACS sulla corteccia somatosensoriale primaria (S1). L'efficacia della stimolazione è stata testata rispetto ad un ampio *range* di frequenze (2- 70 Hz), dimostrando l'esclusiva capacità delle frequenze di stimolazione alpha (10-14 Hz) e gamma (52-70 Hz) di produrre sensazioni tattili nella mano controlaterale al sito corticale stimolato. La sensazione tattile è stata indotta in due differenti modi da parte delle due frequenze di stimolazione: attraverso l'interferenza con l'attività corticale a riposo (alpha-tACS) e attraverso l'induzione di attivazione corticali (gamma-tACS).

Studi precedenti (Pfurtscheller & Neuper, 1992) confermano la correlazione tra attivazione sensorimotoria e frequenze EEG alpha e gamma, con una iniziale desincronizzazione di attività alpha corrispondente alla fase di pianificazione dell'azione, seguita da incremento di attività gamma parallela all'insorgenza del movimento.

Le osservazioni dirette degli effetti della tACS sull'elettrofisiologia spontanea hanno permesso di comprendere i meccanismi eziologici di alcuni fenomeni percettivi avvertiti in fase di stimolazione: la percezione di fosfeni in seguito a stimolazione della corteccia visiva primaria, è infatti strettamente dipendente dalla frequenza di stimolazione utilizzata (Kanai et al., 2008).

Nello studio di Strüber e collaboratori (2014) la tACS (40 Hz o 6 Hz) è stata somministrata in corrispondenza della corteccia occipito- parietale di entrambi gli emisferi (180°) o di un solo emisfero (0°) durante l'esecuzione di un compito percettivo visivo. Ai soggetti è stato chiesto di riportare la direzione di movimento percepita rispetto ad uno stimolo presentato, la cui variazione di movimento può essere avvertita sia come orizzontale che verticale

(stimolo bistabile). Partendo dal presupposto che la percezione di movimento orizzontale è associata ad elevata coerenza interemisferica relativa ad attività gamma (Rose & Büchel, 2005), la stimolazione tACS bilaterale a 40 Hz, comportando un'alterazione di tale coerenza (desincronizzazione interemisferica di attività gamma), ha determinato il decremento della percezione di movimento orizzontale.

Il ruolo delle variazioni di coerenza dell'attività gamma nella percezione di stimoli ambigui era evidente già in studi precedenti (Engel et al., 2001), tuttavia l'utilizzo della stimolazione ha permesso di interferire con tale meccanismo e determinarne il ruolo causale.

Oltre all'alterazione della soglia percettiva, la stimolazione oscillatoria secondo frequenze funzionalmente associate all'attività in corso ha dimostrato un significativo impatto sulla modulazione di processi cognitivi di ordine superiore, in particolare per quanto riguarda le funzioni mnestiche.

Attraverso l'utilizzo di stimolazione oscillatoria è stato possibile individuare il ruolo delle differenti oscillazioni cerebrali nei processi di memorizzazione. Nell'esperimento di Marshall e collaboratori (Marshall et al., 2005), la tDCS applicata in aree prefrontali non ha comportato alcuna modificazione significativa nell'andamento della *performance* in un compito di *working memory* (*Sternberg Task*); tuttavia, rispetto alla condizione di controllo, entrambe le tipologie di tDCS (anodica e catodica) hanno prodotto un rallentamento nei tempi di risposta. Gli effetti della tDCS su tempi di risposta, piuttosto che sulle operazioni di *working memory* in sé, sono probabilmente dovuti all'alterazione dell'attività oscillatoria associata all'esecuzione del compito. Un naturale incremento di attività theta e gamma in zone frontali è stato infatti riscontrato durante compiti di *working memory* (Gevins et al., 1997; Sarnthein et al., 1998), ne consegue che l'interferenza su tali ritmi naturali prodotta dall'alterazione dell'eccitabilità corticale (tDCS), determina un globale rallentamento nell'esecuzione della *performance*.

Contrariamente a tali risultati, nello studio di Keeser e collaboratori (2011), la tDCS in aree prefrontali ha determinato un miglioramento della *performance* (accuratezza e tempi di reazione) in un compito di *working memory* (*n-back*). Le discrepanze riscontrate sono dovute agli effetti ritardati della tDCS sul miglioramento dei tempi di reazione, dovuto al progressivo rafforzamento delle connessioni funzionali (Dockery et al., 2009): nello studio di Marshall e collaboratori (2005) le prestazioni sono state valutate nel periodo immediatamente successivo alla stimolazione, rendendo impossibile la rilevazione della modulazione complessiva esercitata dalla tDCS.

Kirov e collaboratori (2009), replicando un precedente paradigma di stimolazione in stato di sonno (Marshall et al., 2006), hanno esaminato l'impatto della osc-tDCS applicata a frequenze molto basse (0.75 Hz) (*Slow Oscillation* tDCS, SO-tDCS) in aree frontali sulle prestazioni mnestiche, utilizzando una batteria di test di memoria dichiarativa (verbale e non verbale) e procedurale. Come precedentemente descritto, elettrofisiologicamente la stimolazione ha prodotto un diffuso incremento di ritmo theta (4-8 Hz) e un localizzato incremento di onde lente (0.4-1.2 Hz) in aree frontali.

Due differenti esperimenti sono stati condotti al fine di testare gli effetti della stimolazione sui due distinti e consequenziali meccanismi di formazione della memoria a lungo termine: codifica e consolidamento delle informazioni. In un primo esperimento la stimolazione è stata applicata dopo la fase di apprendimento e l'effetto testato attraverso un compito di rievocazione differita (processo di consolidamento); in un secondo esperimento la stimolazione è avvenuta durante la fase di apprendimento e gli effetti sono stati osservati mediante una prova di rievocazione immediata (processo di codifica). L'ottimizzazione prestazionale indotta dalla SO-tDCS è stata riscontrata solo nel secondo esperimento, in riferimento al miglioramento del processo di codifica relativo a compiti di memoria dichiarativa (ippocampo- dipendente).

I processi di codifica avvengono, infatti, durante la fase di veglia e in associazione con l'incremento di attività theta (1-7 Hz) (Mölle et al., 2002; Sederberg et al., 2003): la SO-tDCS, facilitando tali processi, ha determinato il conseguente miglioramento della *performance*.

L'applicazione di stimolazione oscillatoria secondo frequenze biologicamente rilevanti ha prodotto interessanti risultati anche riguardo il potenziamento dell'intelligenza fluida. La stimolazione tACS a frequenze compatibili con attività gamma (gamma-tACS) in regioni prefrontali, ha comportato un significativo miglioramento delle prestazioni in compiti di ragionamento fluido (p.e., Matrici di Raven), attribuito all'incremento della potenza spettrale di attività gamma successivo alla stimolazione (Santarnecchi et al., 2013).

L'ottimizzazione delle *performance* cognitive in seguito ad *entrainment* di attività gamma in regioni prefrontali, conferma il coinvolgimento di tale ritmo nell'implementazione di funzioni cognitive di ordine superiore.

Come dimostrato in studi precedenti, la sincronizzazione di attività cerebrale ad elevate frequenze (*range* gamma) permette di orchestrare il processamento di informazioni nelle aree prefrontali, influenzando un ampio spettro di funzioni cognitive: attenzione (Tallon et

al., 2004), memoria (Howard et al., 2003), linguaggio (Bastiaansen & Hagoort, 2006) e apprendimento (Bauer et al., 2007).

L'utilizzo delle tecniche di stimolazione ha permesso dunque di stabilire un tipo di rapporto non solo correlazionale, ma potenzialmente causale, tra attività cognitiva e comportamentale in corso e attività EEG, mediante la possibilità di manipolare in maniera diretta le dinamiche di oscillazione cerebrale e osservarne gli effetti in termini di variazione delle *performance*.

2.2 tES e modulazione del sonno

Per comprendere i presupposti teorici alla base dell'utilizzo delle tecniche di stimolazione nell'ambito del sonno (Annarumma et al., 2018), è necessario far riferimento all'esistenza di due distinti e interconnessi meccanismi di regolazione dei ritmi sonno-veglia: circuiti "*bottom-up*" e circuiti "*top-down*".

Come descritto in precedenza (**cf.**, **par. 1.1**), le principali strutture cerebrali coinvolte nella neurofisiologia del sonno e della veglia sono rappresentate dal tronco encefalico, dal talamo e dalla neocorteccia.

Mentre i circuiti di regolazione "*bottom-up*" fanno riferimento ai meccanismi di inibizione reciproca (circuito *flip-flop*) tra il complesso di nuclei neurotrasmettitoriali facenti parte del Sistema Reticolare Attivante e il sistema neurotrasmettitoriale GABAergico situato nell'APVL, i circuiti "*top-down*" si riferiscono agli effetti derivanti dalle connessioni a feedback tra neuroni talamici e neuroni corticali, i quali definiscono il peculiare pattern EEG desincronizzato tipico della veglia o sincronizzato tipico del sonno, in modalità dipendente dallo specifico stato di attivazione dei neuroni talamocorticali.

Le tradizionali terapie farmacologiche agiscono attraverso l'interazione con le sostanze neurotrasmettitoriali implicate nei circuiti di regolazione "*bottom-up*", bersaglio dello specifico farmaco in utilizzo; viceversa, la possibilità di modulare lo stato di eccitazione di una specifica regione (o *network*) corticale, permette di alterare funzionalmente i pattern corticali elettrofisiologici agendo direttamente sui meccanismi regolatori "*top-down*" (Krone et al., 2017).

Considerata la stretta relazione tra sonno e memoria, un ampio filone di ricerche ha utilizzato il paradigma di stimolazione transcranica al fine di chiarire la natura di tale relazione.

Il processo iniziale di codifica e immagazzinamento delle informazioni è strettamente dipendente da ippocampo e neocorteccia per quanto riguarda la memoria dichiarativa (Mayes et al., 2007), diversamente coinvolge circuiti cortico-striatali nel caso di formazione di memorie procedurali (Barnes et al., 2005). Il sonno esercita un ruolo cruciale per la successiva fase di consolidamento delle informazioni (Fischer et al., 2002; Huber et al., 2004), attraverso la ripetuta riattivazione (*replay*) delle tracce mnestiche in modalità differenziata per le due tipologie di memoria. Numerose evidenze suffragano l'ipotesi che il sonno ad onde lente (SWS: stadi 3,4 NREM) sia legato al consolidamento di memorie dichiarative (Diekelmann & Born, 2010; Ellenbogen et al., 2006), viceversa lo stadio REM sarebbe maggiormente implicato nel consolidamento di memorie procedurali (Smith, 2001; Stickgold et al., 2000).

In particolare, il pattern EEG tipico dello SWS è caratterizzato dalla presenza di onde delta (1-4 Hz) ed onde lente oscillatorie (0.5-1 Hz). Le onde lente oscillatorie (*Slow Waves Oscillations*, SWO) riflettono la periodica transizione tra momenti di attivazione corticale (“*UP state*”) e momenti di quiescenza (“*DOWN state*”).

Una stretta relazione funzionale e temporale è stata osservata durante lo SWS tra attività corticale (SWO), attività talamica (*spindles*) e attività ippocampale (*Sharp-Wave Ripples*, SWRs) (Isomura et al., 2006; Mölle et al., 2002). Tale attività coordinata media la comunicazione tra ippocampo e neocorteccia, consentendo il trasferimento delle tracce mnestiche (temporaneamente immagazzinate nell'ippocampo) in corteccia (magazzino a lungo termine) (Marshall & Born, 2007), mediante meccanismi di plasticità neuronale.

Il consolidamento di memorie procedurali nel sonno REM avverrebbe, invece, attraverso la riattivazione delle informazioni codificate all'interno dei network cortico-striatali (Doyon et al., 2003). Tale riattivazione è consentita dal tipico pattern di attivazione EEG desincronizzata durante lo stadio REM, caratterizzato da onde theta (4-8 Hz) e gamma (30-50 Hz). Tuttavia, la relazione tra sonno REM e consolidamento della memoria procedurale non sembra essere contraddistinta da una stretta interdipendenza, a differenza di quanto verificato per SWS e memoria dichiarativa. Inoltre, la stessa memoria procedurale trae parziale beneficio dai meccanismi di consolidamento che avvengono durante la fase NREM (Barham et al., 2016).

Una spiegazione alternativa rispetto al ruolo dei due principali tipi di sonno nel consolidamento mnestico fa riferimento al modello dei due processi, teorizzato da Buzsáki (1998). Secondo tale modello, l'attività desincronizzata tipica della fase REM consentirebbe all'ippocampo di ricevere informazioni dalla neocorteccia, viceversa le

informazioni verrebbero nuovamente trasferite in corteccia grazie alle interazioni ippocampo-talamo-corticali osservate in stadio NREM: entrambi gli stadi risulterebbero quindi necessari al processo di consolidamento della memoria dichiarativa ippocampo-dipendente.

L'applicazione della tES durante i vari stadi di sonno ha permesso di chiarire la relazione tra tipi di sonno e tipi di memoria, attraverso la possibilità osservare gli effetti conseguenti al potenziamento o alla soppressione degli specifici meccanismi indagati.

Nei paradigmi utilizzati il consolidamento di informazioni dichiarative o procedurali è stato testato mediante il confronto tra prestazioni precedenti e successive ad una notte di sonno. Nella maggior parte degli studi la tES è stata applicata in aree prefrontali, al fine di modulare numero, ampiezza e potenza spettrale delle oscillazioni lente, generate in corrispondenza di tali aree durante lo SWS (Massimini et al., 2004).

Marshall e collaboratori (Marshall et al., 2004) hanno osservato gli effetti della tDCS anodica in aree frontali somministrata durante le fasi di sonno ad onde lente (SWS). Dal punto di vista elettrofisiologico, l'effetto di polarizzazione esercitato sul tessuto corticale stimolato ha prodotto un consistente incremento dell'attività oscillatoria lenta (< 3 Hz), accompagnato da un decremento dell'attività rapida relativa alle bande theta, alpha e beta. Tali effetti hanno determinato un'aumentata profondità del sonno ad onde lente, sebbene la durata complessiva dello SWS sia rimasta invariata (architettura del sonno preservata).

Da un punto di vista comportamentale, i soggetti sottoposti a stimolazione durante SWS hanno manifestato un miglioramento nelle *performance* di memoria dichiarativa, al contrario le prestazioni relative a compiti di memoria procedurale non hanno subito alcuna alterazione. I risultati elettrofisiologici e comportamentali appaiono in reciproca connessione: l'approfondimento degli stadi di SWS prodotto dalla stimolazione ha consentito il potenziamento dei processi di consolidamento presenti durante tale fase di sonno, con la conseguente ottimizzazione delle *performance* di memoria dichiarativa (ippocampo-dipendente).

I risultati sono stati sostanzialmente replicati in un successivo studio (Marshall et al., 2006), nel quale è stato utilizzato un protocollo di stimolazione transcranica oscillatoria a diverse frequenze (SO-tDCS e theta-tDCS) applicato in sonno NREM. La somministrazione di SO-tDCS, diversamente dalla theta-tDCS, ha prodotto un *entrainment* delle frequenze oscillatorie lente endogene e un simultaneo aumento degli *spindles* frontali, con il conseguente rinforzo dello SWS. Come ipotizzato, le *performance* in compiti di memoria dichiarativa sono migliorate in seguito a SO-tDCS: anche in questo

caso la stimolazione ha permesso di potenziare il meccanismo di consolidamento associato allo SWS, facilitando il dialogo tra ippocampo e neocorteccia.

Tali risultati sono complementari a quelli osservati nell'esperimento di Kirov e collaboratori (Kirov et al., 2009), nel quale il medesimo paradigma sperimentale è stato replicato in stato di veglia: la somministrazione di SO-tDCS non ha prodotto alcun effetto sui processi di consolidamento mnestico (associati allo SWS e ad attività oscillatoria lenta), tuttavia incrementi prestazionali sono stati osservati nei processi di codifica (associati allo stato di veglia e ad attività theta).

Dopo aver ampiamente osservato le variazioni indotte da SO-tDCS, Marshall e collaboratori (Marshall et al., 2011) hanno indagato gli effetti della theta-tDCS applicata durante le fasi REM e NREM. Durante la fase NREM, a differenza della SO-tDCS, la stimolazione oscillatoria a frequenze theta ha causato una riduzione globale dell'attività oscillatoria lenta e degli *spindles* frontali associati, comportando un generico decremento dei processi di consolidamento di memoria dichiarativa. Quando somministrata durante la fase REM, la theta-tDCS ha prodotto un incremento di attività gamma (tipicamente presente in tale fase), senza significative ripercussioni sulle successive *performance* di memoria procedurale.

I risultati, oltre a confermare la rilevanza dello stato elettrofisiologico endogeno nel direzionare gli effetti della stimolazione, indicano l'esistenza di un'interdipendenza funzionale tra i diversi ritmi osservati in interazione tra loro (attività theta/delta e attività theta/gamma). L'incremento di onde theta durante la veglia (indice diretto di pressione verso il sonno), è positivamente correlato con la manifestazione di onde delta nella successiva notte di sonno, secondo un principio di regolazione omeostatica (Finelli et al., 2001). Inoltre, l'attività theta sembrerebbe interagire funzionalmente con l'attività gamma durante i processi di formazione mnestica in veglia (Jensen & Colgin, 2007).

Nell'esperimento di Binder e collaboratori (Binder et al., 2014) il protocollo di stimolazione oscillatoria applicata in aree frontali durante gli stadi NREM è stato replicato su un campione di roditori (ratti). La prestazione mnestica è stata valutata attraverso l'utilizzo di un compito di memoria ippocampo-dipendente (*Object Place Recognition*, OPR), nel quale la preferenza espressa dall'animale per un oggetto a cui sono stati esposti in precedenza, è in funzione del ricordo di tale oggetto. Gli animali sottoposti a SO-tDCS durante SWS hanno mostrato un significativo incremento della preferenza legata all'oggetto precedentemente presentato, in linea con le evidenze relative agli effetti positivi

del sonno meccanismi di memoria ippocampo-dipendenti nel modello animale (Diekelmann & Born, 2010; Plihal & Born, 1997; Stickgold, 2005).

Studi recenti hanno riscontrato effetti simili anche in soggetti anziani (Ladenbauer et al., 2017; Westerberg et al., 2015), sebbene rispetto a tale popolazione l'efficacia della stimolazione sembri produrre evidenze piuttosto discordanti (Eggert et al., 2013; Paßmann et al., 2016).

Oltre a rafforzare il consolidamento mnestico, il sonno faciliterebbe l'apprendimento di nuove informazioni nel successivo periodo di veglia (Mander et al., 2011; Yoo et al., 2007). L'utilizzo della tES ha permesso di chiarire i meccanismi attraverso cui il sonno esplicherebbe tale ulteriore funzione.

La teoria più accreditata in questo ambito fa riferimento al *downscaling* sinaptico (Tononi & Cirelli, 2003). Secondo tale teoria, durante il sonno ad onde lente verrebbe attuata una riorganizzazione sinaptica, al fine di contrastare l'aumento del "peso" delle connessioni sinaptiche stabilite nel periodo di veglia. Il pattern sincronizzato dello SWS favorisce, infatti, i processi di depressione sinaptica (Czarnecki et al., 2007), con la conseguente eliminazione delle connessioni più deboli. Tale meccanismo consente di preservare le potenzialità plastiche dei circuiti neurali, garantendo guadagni prestazionali nelle *performance* successive alla notte di sonno.

Nello studio di Antonenko e collaboratori (2013), l'applicazione di SO-tDCS durante un *nap* pomeridiano ha comportato un incremento di SWS e un conseguente miglioramento delle capacità di codifica (apprendimento) in compiti di memoria dichiarativa, a sostegno dell'ipotesi del *downscaling* sinaptico. Tali risultati appaiono inoltre speculari a quelli dello studio precedentemente condotto da Van De Werf e collaboratori (2009), nel quale la soppressione di SWS mediante stimolazione acustica ha causato un globale peggioramento nelle *performance* di apprendimento dichiarativo.

Sempre con riferimento alla teoria del *downscaling* sinaptico, il contributo funzionale dello SWS è stato dimostrato anche nell'ambito delle funzioni esecutive. In pazienti con ADHD è stata riportata una ridotta funzionalità del sonno ad onde lente (Ringli et al., 2013), con conseguenti ripercussioni sulle prestazioni mnestiche ed esecutive esibite durante il giorno (Gruber & Sadeh, 2004; Prehn-Kristensen et al., 2011). L'utilizzo di SO-tDCS in fase NREM in questi pazienti, ha determinato un significativo incremento del controllo inibitorio (funzione esecutiva), come dimostrato dalla riduzione dei tempi di reazione all'interno di un *go- no go task* (Munz et al., 2015).

Il sonno ad onde lente, oltre a rivestire un ruolo chiave nei processi di apprendimento e consolidamento mnestico, rappresenta lo stadio di sonno maggiormente sensibile ai processi di regolazione omeostatica (Aeschbach et al., 1997). Lo SWS manifesta recupero quantitativo in seguito ad eventuale privazione di sonno e va incontro ad un progressivo decremento della sua durata nel corso della notte (Nir et al., 2011; Riedner et al., 2007).

La teoria del *downscaling* sinaptico, affermando l'esistenza di meccanismi neurali di plasticità omeostatica, offre una spiegazione neurobiologica di tale fenomeno: le variazioni notturne dello SWS sono conseguenza dell'entità delle modificazioni plastiche cerebrali *LTP-like*. Reato e collaboratori (2013) hanno osservato alterazioni nei meccanismi di omeostasi del sonno prodotte dall'utilizzo di stimolazione oscillatoria durante SWS. Nello specifico, utilizzando un modello computazionale, è stata descritta la possibilità di accelerare i meccanismi omeostatici attraverso il potenziamento dello SWS mediante SO-tDCS, con il conseguente decremento (nella potenza e coerenza spettrale) del fenomeno di decadimento dello SWS nel periodo successivo alla stimolazione.

Il sonno ad onde lente è stato a lungo associato alle funzioni ristorative del sonno (Bonnet, 1987). Alcune evidenze suggeriscono il ruolo attivo della riduzione di sonno ad onde lente nella patogenesi dell'insonnia primaria (Dijk, 2009); inoltre, la maggior parte dei farmaci utilizzati per contrastare alcuni sintomi del disturbo (p.e., Benzodiazepine), contribuiscono a determinare la soppressione di SWS (Rosenberg, 2006; Zisapel, 2007). Data la capacità della stimolazione oscillatoria di potenziare l'attività ad onde lente in soggetti sani, Saebipour e collaboratori (2015) hanno osservato gli effetti della SO-tDCS su una popolazione di pazienti insonni. Le analisi polisonnografiche hanno illustrato che l'incremento di SWS successivo a SO-tDCS (somministrata per 25 minuti durante il primo stadio 2 NREM) ha condotto ad una serie di modificazioni nell'architettura complessiva del sonno: incremento della durata dello stadio 3 NREM, diminuzione della durata dello stadio 1 NREM e dei periodi di veglia successiva ad addormentamento (*Wake After Sleep Onset*, WASO), maggiore probabilità di transitare dallo stadio 2 allo stadio 3 NREM e viceversa minore probabilità di transitare dallo stadio 2 allo stato di veglia.

Un'ulteriore illustrazione della possibilità di intervenire sull'architettura del sonno mediante induzione di stimolazione transcranica è offerta da uno studio condotto da Frase e collaboratori (2016). L'applicazione bifrontale di tDCS anodica ha comportato una significativa riduzione (circa 25 min) del tempo totale di sonno (TST) in soggetti sani. Gli effetti a lungo termine della depolarizzazione indotta da stimolazione anodica potrebbero aver determinato un incremento dei livelli di *arousal* corticale, promuovendo la

propagazione di attività rapida gamma e influenzando indirettamente la regolazione dei circuiti cortico-talamici. In un successivo studio, gli Autori hanno replicato il protocollo su un campione di pazienti Insonni (Fraser et al., 2019). Diversamente da quanto osservato nel gruppo di controllo, nessun effetto significativo connesso all'applicazione di tDCS anodica è stato riscontrato in questi pazienti, giustificato dagli Autori attraverso la possibile influenza di un "effetto tetto" prodotto dall'elevato grado di *iperarousal* fisiologico, frequentemente riscontrato in questa tipologia di pazienti.

L'utilizzo delle tES nell'ambito del sonno è stato esteso negli ultimi anni anche all'indagine relativa al coinvolgimento di determinate strutture e circuiti neurali implicati nella produzione di esperienze oniriche.

Dati provenienti da studi di lesione e studi di neuroimmagine hanno contribuito a delineare il substrato neurale correlato ad attività onirica. Durante la fase REM, scenario privilegiato dell'esperienza onirica, indagini PET e fMRI hanno mostrato una deattivazione in aree corticali frontali (dlPFC, OFC) e una contemporanea attivazione in aree corticali parietali posteriori (precuneo, giro sopramarginale, lobuli parietali posteriori) e in strutture sottocorticali (tronco encefalico, sistema limbico e talamo) (Maquet et al., 1996). Studi lesionali hanno confermato tali evidenze, dimostrando che il danneggiamento di aree prossime alla giunzione temporo-parieto-occipitale coincide con un'interruzione globale dell'attività onirica (Solms, 2000).

Nello studio preliminare condotto da Jakobson e collaboratori (2012) sono stati indagati gli effetti della tDCS applicata simultaneamente in aree frontali (stimolazione catodica) e aree parietali (stimolazione anodica), durante lo stadio 2 NREM. A seguito di una eventuale simulazione dell'attività corticale tipicamente associata all'esperienza onirica attraverso la stimolazione, gli Autori hanno ipotizzato un incremento nella frequenza di sogni riportati dai soggetti al loro risveglio. La contemporanea registrazione EEG, in corrispondenza dell'emisfero non sottoposto a stimolazione, ha indicato l'assenza di variazioni di potenza spettrale in seguito a stimolazione; tuttavia, eventuali effetti modulatori potrebbero essere stati oscurati da artefatti elettrici causati dal passaggio di corrente. In accordo con l'ipotesi iniziale, l'iperpolarizzazione delle aree frontali e la depolarizzazione delle aree parietali ha determinato un incremento della quantità di sogni riportati, come indicato dai resoconti onirici; tuttavia tale modalità di stimolazione non ha causato un effetto significativamente differente rispetto alla stimolazione con polarità invertita (anodo-frontale e catodo-parietale) o diretta a differenti aree bersaglio (anodo-occipitale): la stimolazione potrebbe infatti aver causato un generico incremento dei livelli fisiologici di *arousal*, il quale,

indipendentemente dalla tipologia di stimolazione, avrebbe incrementato la probabilità di ricordare i sogni.

L'esperienza onirica costituisce un particolare stato di coscienza definito "primario", nel quale l'attività mentale fa esclusivo riferimento all'immediato presente, con un incontrollato accesso ad eventi del passato o del prossimo futuro (Edelman, 2003); lo stato di coscienza "secondario", caratteristico della fase di veglia, prevede invece la presenza di funzioni cognitive di alto livello: metacognizione, pensiero astratto e volizione (Hobson, 2009). Il sogno lucido rappresenterebbe una condizione in cui stato "primario" e "secondario" della coscienza coesistono: è prevista infatti la contemporanea presenza di sogno e consapevolezza, rendendo il soggetto sia attore che spettatore delle proprie azioni. Il mantenimento di volizione e controllo sulle proprie azioni durante l'esperienza di sogni lucidi, sembra essere correlato ad una maggiore attivazione della dlPFC (Hobson et al., 2000), fortemente implicata nei processi di consapevolezza soggettiva e presa di decisione. Manipolando sperimentalmente l'attivazione della dlPFC mediante stimolazione anodica durante lo stadio REM, Stumbrys e collaboratori (2013) hanno dimostrato il ruolo cruciale di tale struttura nell'esperienza onirica consapevole. Tuttavia, l'incremento della frequenza di sogni lucidi in seguito a stimolazione, è stato riscontrato solo per quanto riguarda i sognatori lucidi abituali, nei quali l'incrementata attivazione basale delle aree frontali durante il sonno REM ha contribuito al manifestarsi del debole effetto della stimolazione. Da un punto di vista elettrofisiologico, l'attività EEG associata ai sogni lucidi è caratterizzata da un'elevata presenza di onde gamma, soprattutto in regioni frontali e temporali (Dresler et al., 2014). Per testare il ruolo di tali oscillazioni rapide rispetto all'insorgenza dei sogni lucidi è stato utilizzato un paradigma di stimolazione tACS fronto-temporale somministrata a diverse frequenze (Voss et al., 2014). Nello studio è stato osservato che l'induzione di stimolazione tACS secondo frequenze compatibili con attività rapida (40 e 25 Hz) ha incrementato la percezione di consapevolezza all'interno dei sogni riportati dai soggetti, suggerendo una reciproca influenza tra sogni lucidi e determinate frequenze di attività EEG. La possibilità di incrementare il controllo esercitato sul contenuto dei propri sogni potrebbe rappresentare un'opportunità terapeutica per i pazienti con Disturbo Post-Traumatico da Stress (PTSD), frequentemente associato all'intrusione di attività onirica di natura terrificata (Voss et al., 2014).

2.3 tES e modulazione di sonnolenza e vigilanza

Come descritto in precedenza, l'attività ritmica EEG rappresenta un importante principio organizzativo del funzionamento cerebrale. Differenti pattern di attività EEG sono associati a determinati stati fisiologici (veglia attiva, veglia rilassata, sonno) e a determinate attività cognitive e comportamentali in corso (Thut & Miniussi, 2009).

In generale, oscillazioni di bassa frequenza (4-12 Hz) sembrerebbero sottendere interazioni funzionali a lunga distanza (p.e., all'interno del network fronto-parietale), al contrario oscillazioni rapide (20-100 Hz) implicherebbero interazioni localizzate all'interno di una medesima area cerebrale (Ward, 2003).

Gli effetti di modulazione dei pattern EEG mediante l'induzione di tES sono stati osservati non solo durante il periodo di veglia o di sonno, ma anche in riferimento a stati di transizione veglia-sonno o alla modulazione dei livelli di sonnolenza e/o vigilanza.

Effetti significativi sull'elettrofisiologia spontanea sono stati osservati in seguito a stimolazioni applicate a frequenze compatibili con attività gamma (Strüber et al., 2014), beta (Pogosyan et al., 2009), alpha (Neuling et al., 2012; Zaehle et al., 2010), theta (Marshall et al., 2011) e delta (Marshall et al., 2006), sia nell'uomo che nel modello animale (Ozen et al., 2010).

Una delle prime osservazioni dirette degli effetti della stimolazione oscillatoria in condizione di veglia rilassata ad occhi chiusi proviene dallo studio di Zaehle e collaboratori (2010) e fa riferimento all'induzione di attività alpha. La somministrazione di tACS a frequenze compatibili con attività alpha e in corrispondenza della corteccia occipitale, ha comportato un successivo incremento della potenza spettrale di tale ritmo, diversamente da quanto osservato in seguito a stimolazione *sham*.

La possibilità di incrementare artificialmente il ritmo alpha potrebbe consentire il miglioramento in specifiche *performance* cognitive, per le quali il coinvolgimento di tale ritmo risulta determinante (Hanslmayr et al., 2005).

Utilizzando differenti parametri di stimolazione, Kirov e collaboratori (Kirov et al., 2009) hanno osservato gli effetti frequenza-specifici conseguenti all'applicazione di SO-tDCS. Nei soggetti sottoposti a stimolazione (bilaterale frontale) è stato osservato un lieve incremento di attività EEG lenta (0.4- 1.2 Hz), limitato ad aree frontali; viceversa l'attività theta (4-8 Hz) è andata incontro ad un marcato e diffuso incremento. Una maggiore diffusione delle onde lente, si potrebbe verificare nel caso stimolazione in condizioni di veglia prolungata, in conseguenza dell'aumentata pressione verso il sonno e dunque verso tale tipologia di onde. Il diffuso incremento di attività theta è spiegato in virtù della sua relazione funzionale con il ritmo oscillatorio lento (Carracedo et al., 2013; Lakatos et al.,

2005), indotto dalla stimolazione. Inoltre, l'effetto specifico sull'attività theta e non su quella alpha (entrambe presenti nello stato di veglia rilassata), sembrerebbe essere dovuto al sito di stimolazione: l'attività alpha è maggiormente localizzata in aree posteriori, dunque ha risentito in misura minore degli effetti della stimolazione, applicata in zone frontali.

Nello studio di von Mengden e collaboratori (von Mengden et al., 2011) vengono sostanzialmente replicati i medesimi risultati: l'applicazione di tACS a oscillazioni lente in zone frontali ha determinato l'incremento della potenza spettrale delle onde lente nelle regioni prossime agli elettrodi di stimolazione.

D'Atri e collaboratori (D'Atri et al., 2015) hanno indagato gli effetti elettroencefalografici della osc-tDCS mediante l'utilizzo dell'algoritmo BOSC (*Better Oscillation*) (Caplan et al., 2001), al fine di rilevare le variazioni indotte all'interno della specifica attività EEG oscillatoria. La osc-tDCS frontale è stata somministrata a differenti frequenze: 0.8 Hz (SO-tDCS) e 5 Hz (theta-tDCS). Il confronto tra le due modalità di stimolazione ha evidenziato un maggior impatto della stimolazione a 5 Hz nel determinare il localizzato incremento di attività periodica lenta (*slow oscillation*) e il diffuso incremento di attività periodica theta. Le variazioni di potenza spettrale hanno confermato i risultati degli studi precedenti, mentre l'analisi degli effetti sulla specifica attività periodica (BOSC) ha messo in luce la maggior efficacia modulatoria della stimolazione a 5 Hz. La fisiologica dominanza di attività oscillatoria theta (e alpha) in stato di veglia rilassata, ha favorito il processo di risonanza in frequenza indotto dalla stimolazione a 5 Hz, a differenza di quanto verificato con stimolazione a 0.8 Hz.

Sebbene attraverso differenti meccanismi, anche l'induzione di tDCS polarizzata (non oscillatoria) ha manifestato significativi effetti nella modulazione dell'elettrofisiologia spontanea. Generalmente la stimolazione catodica è stata associata ad incremento della potenza spettrale di onde delta e theta in prossimità delle aree stimolate (Ardolino et al., 2005), viceversa la stimolazione anodica ha determinato la diminuzione dell'ammontare di tali onde lente (Keeser et al., 2011). Tali effetti sono concordi con le rilevazioni di variazioni metaboliche (PET, fMRI, NIRS), nelle quali si attesta una maggiore attivazione cerebrale indotta da stimolazione anodica, contrariamente a quanto osservato per stimolazione catodica (Lang et al., 2005).

Nelson e collaboratori (2014) hanno dimostrato l'efficacia della tDCS nella riduzione del decremento di vigilanza osservato in compiti di natura attentiva. L'attenzione sostenuta, o vigilanza, si riferisce alla capacità di mantenere un'adeguata prestazione attentiva nel

corso del tempo (Davies & Parasuraman, 1982). Insieme alle aree parietali, le regioni corticali frontali sono notoriamente implicate in compiti di vigilanza, con particolare riferimento ad aree corticali prefrontali, come dimostrato in diversi studi PET o fMRI (Berman & Weinberger, 1990; Buchsbaum et al., 1990; Cohen et al., 1988). Nello studio di Nelson (2014) la stimolazione anodica a carico della corteccia prefrontale dorsolaterale (dlPFC) sinistra è stata associata al miglioramento della *performance* in un compito di attenzione sostenuta, con effetti significativi nel caso di stimolazione sia precedente che successiva all'esecuzione del *task* attentivo.

Rispetto alla stimolazione catodica, la tDCS anodica ha mostrato risultati maggiormente significativi, in virtù della dominanza dell'emisfero destro in compiti di vigilanza attentiva (Helton et al., 2010). Infatti, la stimolazione anodica della dlPFC sinistra ha consentito il reclutamento di aree corticali tipicamente non coinvolte in compiti di vigilanza, viceversa la stimolazione catodica ha esercitato un minor effetto deattivante sulla dlPFC sinistra, di per sé notevolmente attivata durante l'esecuzione del *task*.

Il meccanismo attraverso il quale la stimolazione è in grado di contrastare il fisiologico decremento della vigilanza, fa riferimento all'incremento della quantità di risorse cognitive a disposizione del soggetto ("*Resource Theory*"), indipendentemente dal decadimento fisiologico dei livelli di *arousal* ("*Arousal Theory*").

Ulteriori studi a favore di tale ipotesi sono quelli condotti da McIntire e collaboratori (2014, 2017), nei quali sono stati confrontati gli effetti della tDCS e della caffeina sulla capacità di prevenire il peggioramento delle *performance* e dell'umore in seguito a privazione di sonno. I risultati hanno dimostrato l'azione più efficace e duratura della stimolazione cerebrale: mentre la caffeina agisce esclusivamente sul generico incremento dei livelli di *arousal*, la tDCS consente il potenziamento delle risorse cognitive, necessarie per l'esecuzione dei compiti presentati.

L'utilizzo di stimolazione tACS applicata a tale ambito ha prodotto risultati controversi. Mentre lo studio di Kasten e collaboratori (Kasten et al., 2016) non ha mostrato alcun effetto dell'alpha-tACS applicata ad aree corticali posteriori nelle *performance* di vigilanza in compiti visivi, l'applicazione di gamma-tACS in aree occipitali sembrerebbe confermare la capacità della stimolazione di favorire una riduzione del fisiologico decremento di vigilanza (Löffler et al., 2018).

Rispetto ai livelli di sonnolenza, lo studio esplorativo di Frase e collaboratori (2015) su un singolo paziente ipersonne ha dimostrato l'efficacia dell'applicazione di tDCS anodica in aree frontali nell'incrementare i livelli oggettivi e soggettivi di vigilanza e nel ridurre i

livelli di sonnolenza diurna. Tali risultati sono stati confermati in un successivo studio condotto su un campione di pazienti affetti da Ipersonnia Idiopatica (HI) (Galbiati et al., 2016), sottolineando le potenzialità di tale tecniche nel rappresentare un valido strumento terapeutico nella riduzione di uno dei principali sintomi associati a numerosi disturbi del sonno, ovvero l'ESD.

Nell'esperimento di D'Atri e collaboratori è stata esplorata la possibilità di utilizzare la stimolazione oscillatoria al fine di indurre artificialmente attività EEG compatibile con il sonno (D'Atri et al., 2016). Attraverso due differenti esperimenti sono stati confrontati gli effetti della stimolazione oscillatoria applicata a diverse frequenze (0.8 vs. 5 Hz) e con differenti polarità (anodica e catodica) sulla corteccia frontale di soggetti in stato di veglia. Coerentemente con il principio di risonanza, gli effetti più rilevanti sono stati osservati con stimolazione a 5 Hz, maggiormente compatibile con lo stato di veglia nel quale si trovavano i soggetti durante la stimolazione. In particolare, è stato osservato un incremento di attività delta in aree frontali successivo a stimolazione anodica a 5 Hz, parallelo ad un'aumentata percezione di sonnolenza soggettiva, rilevata attraverso l'utilizzo di una scala visuo-analogica (VAS).

Tali risultati sono stati sostanzialmente replicati in un successivo studio (D'Atri et al., 2017), nel quale l'applicazione bilaterale di theta-tACS in corrispondenza di aree corticali fronto-temporali ha prodotto pattern di incremento di attività theta posteriore e decremento di attività alpha anteriore, coerentemente con la tipica configurazione topografica manifestata in condizioni di elevata propensione al sonno.

Grazie alla loro capacità di modulare le proprietà elettrofisiologiche endogene associate a specifici stati di sonnolenza e vigilanza, le tecniche di tES offrono interessanti prospettive sul versante applicativo, rivolte in particolar modo a tutti quei disturbi caratterizzati primariamente o secondariamente da alterazioni dei livelli di sonnolenza diurna.

CAPITOLO 3. LA RICERCA

3.1 Introduzione

Come descritto ampiamente nei precedenti capitoli, l'ultimo decennio ha visto una notevole crescita degli studi in merito all'efficacia dell'utilizzo delle principali tecniche di tES (tDCS e tACS) nella modulazione degli stati elettrofisiologici associati a pattern elettroencefalografici sia di veglia che di sonno.

I primi studi sistematici che hanno previsto l'utilizzo dei differenti protocolli di tES nell'ambito del sonno risalgono agli esperimenti di Marshall e collaboratori. Riassumendo brevemente i principali risultati alla base del *rationale* del presente studio, la somministrazione di tDCS anodica in aree corticali frontali durante lo SWS è stata associata ad un incremento dell'attività oscillatoria lenta, mentre mediante un protocollo di osc-tDCS, gli stessi Autori hanno osservato la possibilità di potenziare le frequenze EEG tipicamente associate ad una determinata fase del sonno (NREM, REM), applicando una frequenza di stimolazione compatibile con tale fase (Marshall et al., 2006, 2011). Saebipour e collaboratori (2015), replicando tali paradigmi di stimolazione su una popolazione di pazienti insonni, hanno osservato una serie di effetti benefici sull'architettura complessiva del sonno, sottolineando il potenziale ruolo terapeutico di tale famiglia di tecniche. Dimostrazioni più recenti della possibilità di intervenire sull'architettura del sonno mediante stimolazione transcranica sono offerte dagli studi di Frase e collaboratori (2016, 2019), condotti mediante l'applicazione bifrontale di tDCS anodica.

Sempre nell'ambito delle potenziali strategie terapeutiche offerte da tali tecniche, alcuni studi hanno indagato la possibilità di modulare non solo aspetti macro e microstrutturali del sonno, ma anche condizioni psicofisiologiche strettamente legate a questi ultimi, come i livelli di vigilanza e sonnolenza. In particolare, l'applicazione di tDCS anodica in corrispondenza di aree corticali frontali è stata associata ad un significativo incremento della *performance* in compiti di attenzione sostenuta (McIntire et al., 2014, 2017; Nelson et al., 2014), mentre studi su pazienti con Ipersonnia Idiopatica (Galbiati et al., 2016) o secondaria (Frase et al., 2015) hanno dimostrato l'efficacia dell'applicazione di tDCS anodica in aree frontali nell'incrementare i livelli oggettivi e soggettivi di vigilanza e nel ridurre i sintomi esperiti di sonnolenza diurna.

L'insieme di tali studi sottolinea l'opportunità offerta da tali metodiche nel fornire un valido supporto nel trattamento di uno dei principali sintomi associati a numerosi disturbi del sonno, ovvero l'Eccessiva Sonnolenza Diurna (ESD).

Sulla scia di tali studi, la presente ricerca si propone di indagare per la prima volta l'efficacia di uno specifico protocollo di tDCS nella modulazione dei livelli di sonnolenza e vigilanza in volontari sani, a cui elevati livelli di sonnolenza sono stati artificialmente indotti mediante un protocollo di parziale deprivazione di sonno. Se da una parte la sperimentazione condotta rappresenta la naturale prosecuzione di precedenti studi che hanno esplorato la possibilità di esercitare effetti basati su meccanismi simili ma in direzione opposta (incremento della sonnolenza) (D'Altri et al., 2016, 2017), dall'altra si vuole sottolineare l'aspetto innovativo del presente lavoro costituito dall'adozione di un approccio multidimensionale. Costrutti quali sonnolenza e vigilanza infatti, noti per manifestarsi attraverso molteplici indicatori, sono stati misurati attraverso strumenti di valutazione sia soggettivi che oggettivi.

Dunque, lo studio è volto al raggiungimento dei seguenti obiettivi principali:

- a) stimare la direzione e l'entità degli effetti della stimolazione in relazione ad indici oggettivi di sonnolenza e vigilanza (fisiologici e comportamentali);
- b) stimare la direzione e l'entità degli effetti della stimolazione in relazione ad indici soggettivi di sonnolenza e vigilanza (questionari *self-report*).

Secondariamente al raggiungimento di tali obiettivi esplorativi, si valuterà l'eventuale efficacia della tecnica e il suo ipotetico utilizzo all'interno di una prospettiva terapeutica non farmacologica per il trattamento di pazienti con ESD.

Nel presente studio si ipotizza che l'applicazione del protocollo di tDCS utilizzato sia in grado di ostacolare alcune manifestazioni tipiche conseguenti la deprivazione di sonno (aumentata pressione del sonno), contrariamente a quanto osservato nella condizione di controllo (stimolazione *Sham*). Più specificatamente, in condizione di elevata sonnolenza, sia assiste ad un incremento di attività EEG ad elevata ampiezza e ridotta frequenza (sincronizzazione del tracciato) da un punto di vista elettrofisiologico, mentre una riduzione dei tempi di risposta a stimoli esterni e una marcata propensione all'addormentamento rappresentano indicatori rispettivamente comportamentali e soggettivi di elevata sonnolenza. Mediante l'applicazione di un protocollo di stimolazione tDCS in corrente anodica, si vuole contrastare l'espressione di tali epifenomeni agendo primariamente in direzione dell'incremento di attività EEG desincronizzata in corrispondenza delle aree corticali stimulate (aree frontali) e, secondariamente, sulla

riduzione delle manifestazioni comportamentali e soggettive dell'aumentata pressione verso il sonno.

3.2 Metodo

3.2.1 Soggetti

Hanno partecipato allo studio 23 volontari sani di età adulta compresa tra i 24 e i 37 anni (29.73 ± 3.44), bilanciati per genere (12 M e 11 F).

I criteri di inclusione sono stati: presenza di regolare ciclo sonno-veglia nella settimana precedente l'esperimento (monitoraggio attraverso Diario del sonno) e assenza di ESD (*Epworth Sleepiness Scale*: ≤ 10).

I criteri di esclusione sono stati: presenza di storia personale e familiare di epilessia; presenza di altri disturbi del sonno e/o altri disturbi medici o psichiatrici valutati attraverso la somministrazione di questionari e/o apposite interviste cliniche (Diario del sonno, PSQI, BDI, STAI); assunzione cronica di sostanze e/o farmaci interferenti con i fisiologici livelli di vigilanza, abitudine ad effettuare sonnellini pomeridiani, consumo eccessivo di caffeina, presenza di placche metalliche intracraniche.

A tutti i soggetti è stato fornito un consenso informato scritto. I soggetti hanno preso parte allo studio solo dopo essere stati adeguatamente informati ed aver sottoscritto il consenso, con possibilità di ritirare la loro partecipazione in qualsiasi momento.

Lo studio è stato condotto in accordo con la dichiarazione di Helsinki ed approvato dal Comitato Etico del Dipartimento di Psicologia.

3.2.2 Materiali

- Stimolazione elettrica transcranica

La stimolazione è avvenuta mediante l'utilizzo di uno stimolatore programmabile (BrainSTIM, EMS medical), connesso ad elettrodi di stimolazione di forma quadrata (25 cm²).

In accordo con gli specifici obiettivi dello studio, il protocollo di stimolazione ha previsto l'erogazione di corrente continua (tDCS) con polarità anodica in corrispondenza delle aree corticali frontali, secondo un montaggio simmetrico bilaterale in grado di stimolare contemporaneamente i due emisferi.

I due anodi sono stati posizionati in corrispondenza delle derivazioni F3 e F4 (aree bersaglio frontali), mentre i catodi in corrispondenza dei mastoidi ipsilaterali (area di referenza posteriore), in conformità con il montaggio previsto dal Sistema Internazionale 10-20 (**Figura 1**).

La stimolazione in corrente continua di intensità compresa tra 0 e 1.5 mA (densità: 0.06 mA/cm²) è stata somministrata in modalità ripetuta: due fasi consecutive di stimolazione della durata di 15 minuti ciascuna, intervallate da 20 minuti di pausa tra una stimolazione e l'altra (30 minuti totali di stimolazione). Nella condizione di controllo (*Sham*) lo stimolatore veniva automaticamente disattivato dopo qualche secondo.

In entrambe le condizioni, per ridurre al minimo le sensazioni percettive presenti all'inizio e al termine della stimolazione, l'intensità è stata progressivamente aumentata fino a raggiungere quella desiderata nei primi 30 secondi all'inizio della stimolazione (fase di *ramp-in*) e ridotta progressivamente in 30 secondi al termine del periodo di stimolazione (fase di *ramp-out*).

Al fine di controllare l'effettiva distribuzione di corrente elettrica attraverso la superficie corticale, è stata eseguita una modellizzazione computerizzata del campo elettrico risultante dall'applicazione del protocollo di stimolazione utilizzato (**Figura 2**), mediante il software SimNIBS 2.1 (Saturnino et al., 2015).

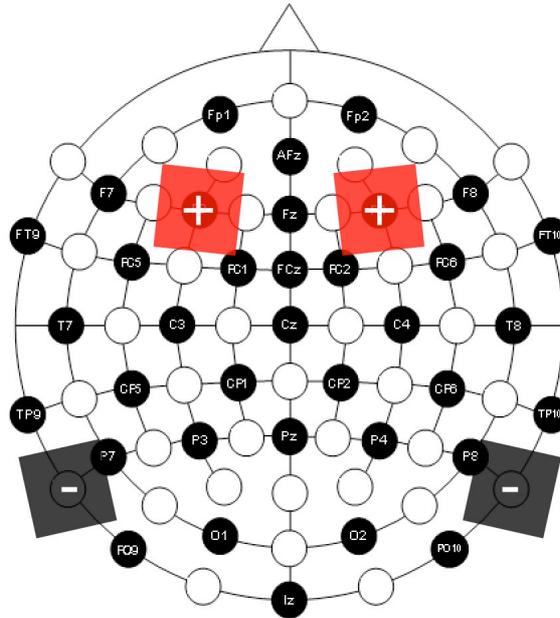


Figura 1. Siti di stimolazione: elettrodi di stimolazione anodica in aree frontali bilaterali (F3, F4); elettrodi di referenza catodica in aree extracefaliche bilaterali (mastoidi ipsilaterali).

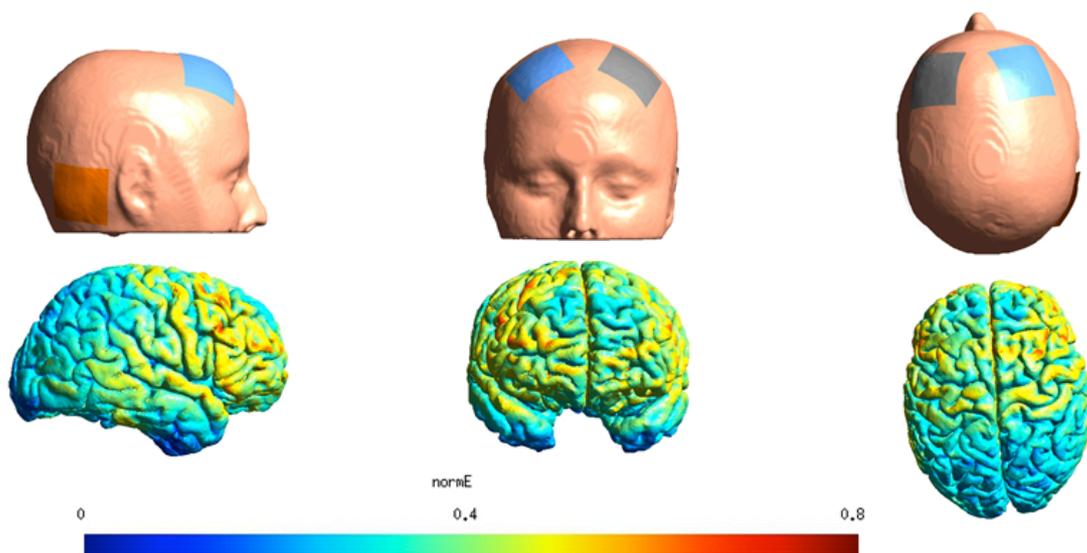


Figura 2. Simulazione del campo elettrico indotto dalla stimolazione, eseguita tramite specifico software per il modeling bio-elettromagnetico (SimNIBS). Dalle immagini risultanti è possibile notare il picco di densità di corrente localizzato bilateralmente in aree frontali, siti stimolazione.

- Registrazioni poligrafiche

Le registrazioni poligrafiche sono state effettuate all'interno delle differenti sessioni previste dal protocollo MWT (modificato *ad hoc*). È stato utilizzato un poligrafo *BrainAmp MR plus system (Brain Products GmbH, Gilching, Germany)* con 26 canali EEG (C3, C4, Cp1, Cp2, Cp5, Cp6, Cz, F7, F8, Fc1, Fc2, Fc5, Fc6, Fp1, Fp2, Fz, O1, O2, Oz, P3, P4, P7, P8, Pz, T7, T8) costituiti da elettrodi sinterizzati Ag-AgCl e montati direttamente su scalpo in accordo con il Sistema Internazionale 10-20.

Il segnale è stato acquisito attraverso derivazioni unipolari referenziate a mastoidi giuntate (A1-A2) e con un sistema di filtraggio inclusivo delle canoniche bande di frequenza EEG: delta (1-4 Hz), theta (5-7 Hz), alpha (8-12 Hz), beta1 (13-15 Hz) e beta2 (16-24 Hz).

In aggiunta alla registrazione EEG sono stati utilizzati canali EMG (elettromiografici) posti in corrispondenza del muscolo sottomentoniero ed EOG (elettrooculografici) posti l'uno a circa 1 cm sopra e lateralmente al canto esterno dell'occhio destro e l'altro a circa 1 cm sotto e lateralmente al canto esterno dell'occhio sinistro.

La frequenza di campionamento è stata impostata a 250 Hz, con filtro passa-banda tra 0.16 e 70 Hz. Il valore d'impedenza degli elettrodi è stato mantenuto al di sotto dei 5 k Ω (EEG e A1, A2) o dei 15 k Ω (EMG, EOG).

Sui tracciati EEG di veglia registrati durante le diverse prove MWT, è stata eseguita la stima dei seguenti parametri qualitativi e quantitativi:

- Latenza di addormentamento (*Sleep Onset Latency* - SOL, sec): tempo che intercorre tra il momento di inizio del protocollo MWT (*start*) e l'addormentamento (comparsa di complesso K);
- Potenze spettrali EEG (μV^2): indice medio relativo alla finestra temporale che intercorre tra l'inizio della prova MWT (*start*) e il termine (fine dei 40 minuti o avvenuto addormentamento). All'interno di tale finestra temporale, per ciascuna derivazione sono state calcolate attraverso la *routine* FFT (*Fast Fourier Transform*) - applicata su epoche della durata di 2 secondi esenti da artefatti (attività muscolare e oculare) - le potenze spettrali dei singoli *bin* di frequenza (1 Hz) mediati per le seguenti bande: delta (1-4 Hz), theta (5-7 Hz), alpha (8-12 Hz), beta1 (13-15 Hz) e beta2 (16-24 Hz).

- Test comportamentale di sonnolenza

Psychomotor Vigilance Task (PC-PVT) (Khitrov et al., 2014)

Misura comportamentale di valutazione dell'attenzione sostenuta. In questo test di reazione a stimoli semplici al soggetto appare al centro del monitor uno *target* visivo. Lo stimolo si presenta automaticamente a intervalli irregolari di tempo ed al soggetto è richiesto di rispondere quanto più rapidamente possibile alla sua comparsa tramite un *click* del mouse. Oltre ad essere un noto ed attendibile *task* utilizzato per la valutazione della vigilanza (Dinges & Kribbs, 1991), il PVT presenta inoltre il vantaggio di non manifestare effetti di apprendimento (Reifman et al., 2018).

Nello studio è stata utilizzata una versione del test di 10 minuti e la misura fondamentale presa in considerazione è stata la Mediana dei tempi di reazione (TR).

- Questionari di sonnolenza autopercepita:

Karolinska Sleepiness Scale (KSS) (Åkerstedt & Gillberg, 1990)

Scala *Likert* di autovalutazione della sonnolenza di stato riferita al momento della somministrazione. Costituita da 9 intervalli equidistanti che variano da “Molto vigile” (1) a “Molto sonnolento, con difficoltà a restare sveglio” (9). Al soggetto si richiede di scegliere quale grado meglio rappresenti il proprio stato psico-fisico al momento della somministrazione.

Visual Analogic Scale for Global Vigor (VAS-gv) (Monk, 1989)

Scala continua di autovalutazione della sonnolenza di stato riferita al momento della somministrazione. Costituita da un segmento (10 cm) su cui il soggetto deve indicare il livello percepito lungo 4 dimensioni (sonnolenza, energia, stanchezza, concentrazione) tra i due estremi “Per niente” e “Moltissimo”. I punteggi alle singole scale vengono successivamente combinati per ottenere il livello di vigore globale.

- Strumenti ulteriori di *screening* e monitoraggio:

Epworth Sleepiness Scale (ESS) (Vignatelli et al., 2003)

Scala di autovalutazione della sonnolenza di tratto costituita da 8 item per la valutazione generale dei livelli di sonnolenza diurna in situazioni di vita quotidiana. Ciascun item è valutato su una scala da 0 (“non mi sono mai appisolato”) a 3 (“alta probabilità di appisolarmi”). Il punteggio globale (da 0 a 24) può essere indicativo della presenza di sonnolenza diurna aumentata (>10) o abnorme (>15).

Rappresenta uno strumento rapido ed economico di *screening* per l'identificazione di coloro che hanno problemi diurni di sonnolenza da approfondire, eventualmente, con PSG o MSLT.

Pittsburgh Sleep Quality Index (PSQI) (Curcio et al., 2001)

Questionario di autovalutazione volto ad indagare la qualità, durata ed efficienza del sonno, in riferimento al mese precedente la somministrazione. Il questionario è composto da 9 item e restituisce punteggi parziali relativi a 7 sotto-scale e un punteggio globale. Le sotto-scale indagano: qualità, latenza, durata, efficacia abituale del sonno, disturbi del sonno, assunzione di ipnotici e difficoltà durante la veglia. Un punteggio globale >5 indica scarsa qualità del sonno.

Rappresenta una misura affidabile, valida e standardizzata della qualità del sonno e consente di individuare buoni dormitori rispetto ai cattivi dormitori.

State-Trait Anxiety Inventory Y 1 e 2 (STAI Y 1 e 2) (Spielberger & Vagg, 1984)

STAIY 1: un questionario *self-report* di valutazione dell'ansia di stato (STAIY 1), composto da 20 item. Al soggetto viene richiesto di indicare, scegliendo da una scala *Likert* a 4 punti (da "per nulla" a "moltissimo"), quanto ciascun item rispecchi il proprio stato psico-fisico al momento della somministrazione. Punteggi >40 indicano presenza di ansia di stato.

STAIY 2: il corrispettivo dello STAIY 1 per la valutazione dell'ansia di tratto. In questo caso la consegna chiede al soggetto di indicare su una scala *Likert* 4 punti (da "mai" a "quasi sempre") quanto spesso gli capita di sperimentare gli stati psico-fisici descritti dagli item.

Beck Depression Inventory-II (BDI-II) (Beck et al., 1996)

Un questionario *self-report* costituito da 21 domande a scelta multipla. Gli item sono suddivisibili in due sotto-scale, una riferita alle componenti affettive della depressione, l'altra alle componenti somatiche. Ciascuna opzione di risposta ha un punteggio da 0 a 3. I punteggi correlano positivamente con la gravità dei sintomi depressivi. Punteggi totali >13 sono indicativi di presenza di un disturbo depressivo.

Profile of Mood States (POMS) (McNair et al., 1971)

Questionario sviluppato per identificare e quantificare stati affettivi particolari costituito da 58 aggettivi che definiscono 6 fattori: Tensione - Ansia (fattore T), Depressione - Avvilimento (fattore D), Aggressività - Rabbia (fattore A), Vigore - Attività (fattore V), Stanchezza - Indolenza (fattore S), Confusione - Sconcerto (fattore C). I soggetti devono fornire una valutazione su scala *Likert* da 1 (“Per niente”) a 5 (“Moltissimo”) relativa all’intensità con la quale risentono di quel particolare stato dell’umore al momento della compilazione.

Modulo di rilevazione delle sensazioni legate alla tES (Fertonani et al., 2015)

Questionario di autovalutazione che consente di controllare le sensazioni fisiche indotte dalla stimolazione, così da evidenziare eventuali differenze percepite dai soggetti nei diversi blocchi di stimolazione o tra le diverse condizioni (Attiva e *Sham*).

Diario del sonno (Carney et al., 2012)

Strumento di autovalutazione compilato quotidianamente dal soggetto al mattino dopo il risveglio. Gli item presentati consentono di avere una misura della stima soggettiva del tempo di addormentamento, numero di risvegli, tempo di veglia infrasonno, tempo totale di sonno, tempo totale di letto ed efficienza del sonno. Fornisce dunque valide informazioni rispetto al sonno e alla percezione soggettiva di esso.

Attigrafo (da polso)

Al fine di verificare l’effettiva aderenza al protocollo di restrizione del sonno, la notte precedente l’esperimento è stata monitorata attraverso l’osservazione dei tracciati derivanti da attigrafi da polso (AMI MicroMini Motionlogger), consegnati in precedenza a ciascun soggetto.

3.2.3 Procedura

La selezione dei soggetti è avvenuta in conformità con i criteri di partecipazione precedentemente elencati ed è stata subordinata all’accertamento dei regolari ritmi sonno-veglia nella settimana precedente l’esperimento (monitorati attraverso Diario del sonno) e all’aderenza al protocollo di parziale deprivazione di sonno nella notte precedente l’esperimento (monitorata attraverso attigrafo da polso).

Il protocollo di deprivazione di sonno ha previsto un periodo massimo di 4 ore di sonno per tutti i soggetti, collocato nella medesima fase della notte: dalle ore 01.00 alle ore 05.00. Ciascun soggetto selezionato ha partecipato ad entrambe le sessioni (sperimentale e di controllo), secondo una procedura *within subjects*.

Le due sessioni sono state svolte nella medesima giornata (dalle ore 10.00 alle ore 18.00 circa) all'interno delle diverse fasi del protocollo MWT.

La scelta del protocollo MWT, misura oggettiva di ESD alternativa all'MSLT, è avvenuta in conformità con gli obiettivi della ricerca, tesa a valutare gli effetti della stimolazione nella modulazione dell'abilità di resistenza al sonno, indipendentemente dallo specifico stato di propensione al sonno (specificatamente misurato dal MSLT).

In accordo con le linee guide standard del protocollo MWT (Littner et al., 2005) sono state rispettate le seguenti condizioni:

1. Inizio delle prove MWT dopo almeno 1.5-3 ore dal risveglio mattutino;
2. Distanziamento tra una prova e l'altra di almeno 2 ore;
3. Esecuzione delle prove in posizione comodamente seduta (capo ben supportato) e in un contesto silenzioso e scarsamente illuminato (contatto indiretto con la fonte di luce);
4. Istruzione a rimanere seduto e sveglio, senza mettere in atto comportamenti specifici finalizzati a mantenere la veglia;
5. Proibizione di dormire tra una prova e l'altra e di assumere sostanze o farmaci psicostimolanti;
6. Interruzione della prova dopo 40 minuti o in seguito ad indubbio addormentamento (comparsa di complesso K);

In accordo con gli obiettivi specifici dello studio, tale protocollo è stato integrato con sessioni di tDCS (Attiva o *Sham*) tra le varie prove e l'aggiunta di misurazioni comportamentali (PC-PVT) e soggettive (KSS, VAS) dei livelli di sonnolenza all'interno di ciascuna prova, delineando una procedura descritta nella seguente figura (**Figura 3**):

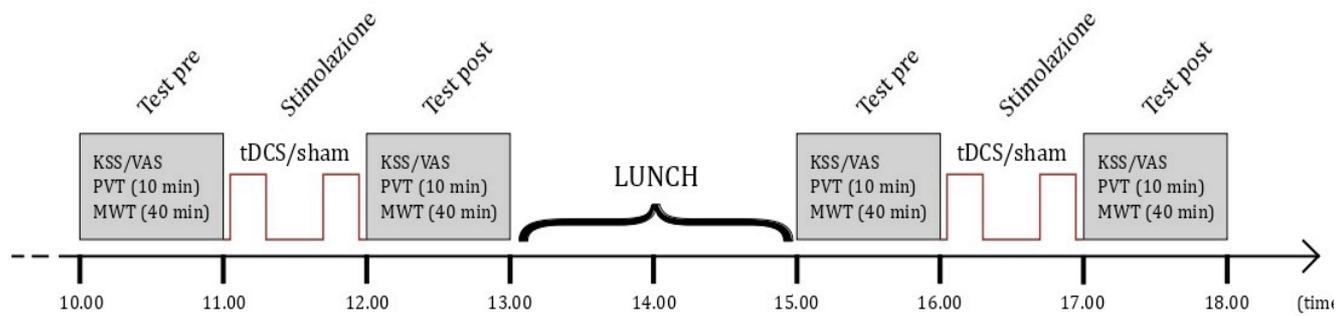


Figura 3. Sinossi del protocollo sperimentale.

In sintesi, ciascuna sessione (10.00-13.00 e 15.00-18.00) ha previsto lo svolgimento delle seguenti fasi:

I. Valutazione pre-stimolazione dei livelli di sonnolenza (durata: circa 1 ora)

- 1) KSS e VAS
- 2) PVT (10 min)
- 3) MWT (40 minuti max)

II. Fase di stimolazione tDCS (Attiva o Sham) (durata: circa 1 ora)

Due sessioni consecutive di stimolazione della durata di 15 minuti separate da 20 minuti di intervallo interstimolo (ISI)

III. Valutazione post-stimolazione dei livelli di sonnolenza (durata: circa 1 ora)

- 1) KSS e VAS
- 2) PVT (10 min)
- 3) MWT (40 minuti max)

L'intervallo di due ore tra le due sessioni sperimentali risulta funzionale al raggiungimento di un duplice obiettivo:

- 1) distanziare le due stimolazioni (Attiva e Sham) di almeno 4 ore al fine di consentire, per quanto possibile, l'eventuale *wash-out* degli effetti;
- 2) evitare lo svolgimento delle sessioni sperimentali nella fascia oraria post-prandiale, interessata da variazioni circadiane dei fisiologici livelli di vigilanza.

L'ordine di presentazione delle due tipologie di stimolazione è stato bilanciato tra tutti i soggetti e stabilito in modo randomizzato secondo una procedura a doppio cieco.

Al fine di controllare la natura delle sensazioni fisiche indotte dalla tDCS, al termine di ciascun blocco di stimolazione è stato somministrato un apposito questionario (Fertonani et al., 2015).

Per monitorare il profilo dell'umore dei soggetti in stato di deprivazione durante le varie prove MWT è stata utilizzata la versione italiana del questionario POMS, sensibile alle variazioni affettive di stato nel corso delle differenti condizioni sperimentali.

3.2.4 Analisi dei dati

- Effetto della stimolazione

Per la valutazione degli effetti della stimolazione sono state considerate le seguenti variabili dipendenti:

- *Variabili fisiologiche*: Latenza di addormentamento (SOL, sec); Potenze spettrali EEG (μV^2)
- *Variabili comportamentali*: Mediana dei TR (ms)
- *Variabili soggettive*: Punteggio globale ai test KKS e VAS (scala di "sonnolenza")

Per ciascuna variabile considerata è stata calcolata la variazione tra misurazione post- e pre- stimolazione, espressa in termini di punteggi differenziali (Post – Pre, Δ), in entrambe le condizioni sperimentali (Δ Attiva, Δ Sham).

I valori ottenuti per ciascun indice di sonnolenza sono stati confrontati mediante un modello misto di Analisi della Varianza (ANOVA), considerando come fattore *within* la condizione di Stimolazione (Attiva vs. Sham) e come fattore *between* la Fase circadiana, con specifico riferimento al momento della giornata in cui i soggetti hanno ricevuto la stimolazione Attiva (Attiva Mattina - AM vs. Attiva Pomeriggio - AP).

Attraverso un disegno di tipo misto è stato possibile osservare sia l'effetto della variabile sperimentalmente manipolata e oggetto dello studio (stimolazione), che la possibile influenza di variabili intervenienti nella determinazione dell'effetto (circadianità).

Le correzioni per i confronti multipli sono state eseguite mediante *False Discovery Rate* (FDR) (Benjamini & Yekutieli, 2001) ed eventuali confronti *post-hoc* pianificati tramite t-test. Al fine di ridurre la variabilità intersoggettiva e normalizzare la distribuzione dei dati, i valori grezzi sono stati analizzati in seguito a trasformazione in scala logaritmica (Log10).

Le analisi statistiche sono state effettuate mediante *routine* elaborate *ad hoc* in ambiente MATLAB (*The Math Works, Inc., MA, USA*).

- Correlazioni

Allo scopo di osservare entità e direzione della relazione tra effetti riscontrati nella condizione Attiva sui diversi indicatori di sonnolenza considerati, è stato calcolato il coefficiente di correlazione di Pearson tra sonnolenza fisiologica (Potenze spettrali EEG) e sonnolenza comportamentale (Mediana TR) e soggettiva (Punteggio globale KSS e VAS).

3.3 Risultati

3.3.1 Effetti del protocollo tDCS su differenti indici di sonnolenza

Sonnolenza fisiologica

Le analisi condotte su variabili di sonnolenza fisiologica, ovvero relative all'esecuzione delle prove MWT, hanno previsto l'esclusione di 3 soggetti sperimentali a causa di problemi tecnici riscontrati in fase di registrazione EEG. Vengono dunque riportati i risultati riferiti alle variabili fisiologiche considerate (potenze spettrali EEG e latenza di addormentamento) ottenuti su 20 soggetti.

- Potenze spettrali EEG

A livello descrittivo (**Figura 4**) le mappe topografiche relative al valore medio delle variazioni di potenza spettrale riscontrate in ciascuna condizione (Δ Attiva e Δ Sham) mostrano pattern differenziati e per certi versi speculari.

Nella condizione Attiva, i valori delle potenze spettrali relative alle bande di frequenze più lente (delta e theta) mostrano un decremento della potenza spettrale nella fase post- rispetto alla fase pre-stimolazione. Le bande di frequenze più rapide (beta1 e beta2) mostrano invece un lieve incremento di potenza spettrale nella fase post-stimolazione, così come osservato per la banda alpha (più marcato in area occipitale).

Nella condizione di controllo (*Sham*), contrariamente a quanto riscontrato in condizione di stimolazione attiva, si osserva un marcato incremento di potenza spettrale nella fase post- rispetto alla fase pre-stimolazione per quanto riguarda le bande di frequenze più lente (delta e theta), riferito soprattutto ad aree fronto-centrali. Per quanto riguarda la potenza

spettrale delle bande di frequenze più rapide, si osserva un decremento dell'alpha in area occipitale e un lieve decremento diffuso nelle bande beta1 e beta2.

Al fine di stabilire l'effettiva entità delle variazioni constatate nelle due prove, è stato calcolato il rapporto (ratio) tra le condizioni post- e pre-stimolazione, da cui è possibile derivare un valore massimo di incremento percentuale del ~40% (riscontrato nel delta in condizione *Sham*), e un valore massimo di decremento che si aggira attorno al ~10% (riscontrato nel delta in condizione Attiva).

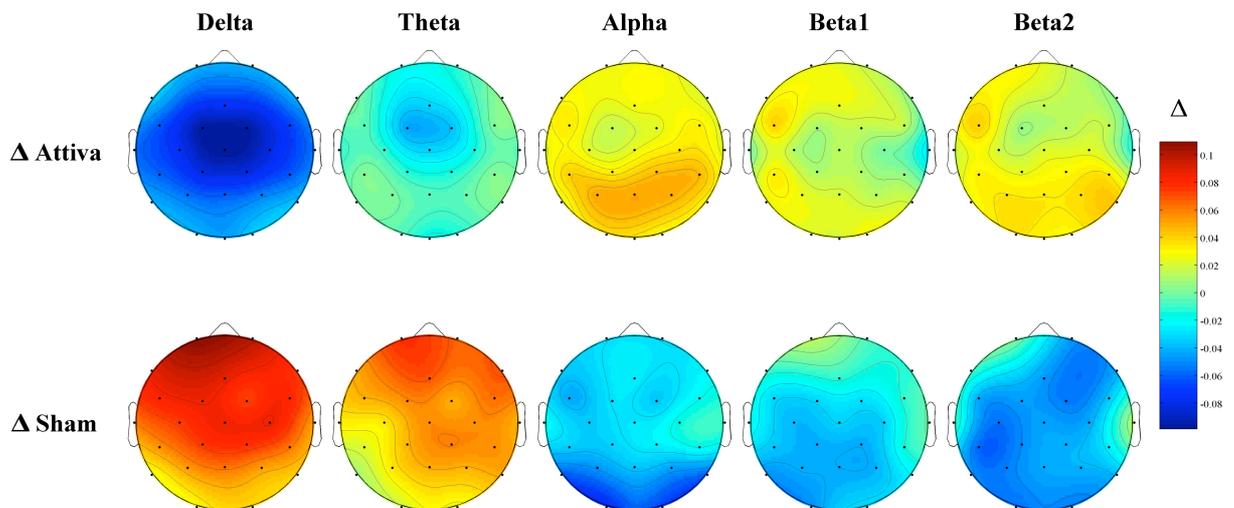


Figura 4. Mappe topografiche delle variazioni post-pre stimolazione (Δ) delle potenze spettrali nelle bande di frequenza delta (1-4 Hz), theta (5-7 Hz), alpha (8-12 Hz), beta1 (13-15 Hz) e beta2 (16-24 Hz) corrispondenti alle due sessioni sperimentali (Δ Attiva, Δ Sham).

I risultati dell'ANOVA mista (Stimolazione x Fase) mostrano l'assenza di risultati significativi attribuiti sia all'effetto di interazione tra i fattori considerati ($p > 0.82$) che all'effetto principale del fattore Fase ($p > 0.20$). Risulta invece significativo l'effetto principale legato al fattore Stimolazione, relativo alle seguenti bande di frequenza: delta (C3: $F=10.59$, $p=0.004$; C4: $F=10.42$, $p=0.004$; Cp1: $F=9.94$, $p=0.005$; Cp2: $F=9.28$, $p=0.006$; Cp5: $F=10.88$, $p=0.003$; Cp6: $F=10.01$, $p=0.005$; Cz: $F=10.60$, $p=0.004$; F7: $F=11.01$, $p=0.003$; Fc1: $F=13.68$, $p=0.001$; Fc2: $F=10.12$, $p=0.005$; Fc5: $F=12.02$, $p=0.002$; Fc6: $F=8.69$, $p=0.008$; Fp1: $F=10.00$, $p=0.005$; Fp2: $F=7.27$, $p=0.014$; Fz: $F=11.52$, $p=0.003$; Oz: $F=7.84$, $p=0.011$; P3: $F=9.38$, $p=0.006$; P4: $F=9.41$, $p=0.006$; P8: $F=7.71$, $p=0.012$; Pz: $F=9.36$, $p=0.006$; T7: $F=10.04$, $p=0.005$; T8: $F=8.99$, $p=0.007$),

theta (Fz: $F=8.41$, $p=0.009$), beta1 (Cp5: $F=9.76$, $p=0.005$) e beta2 (C3: $F=14.88$, $p=0.001$; Cp1: $F=11.87$, $p=0.002$; Cp2: $F=8.77$, $p=0.008$; Cp5: $F=21.52$, $p=0.0002$; Cz: $F=7.69$, $p=0.012$; Fc5: $F=8.29$, $p=0.009$; Fp2: $F=7.29$, $p=0.014$; O1: $F=12.06$, $p=0.002$; O2: $F=9.10$, $p=0.007$; Oz: $F=8.56$, $p=0.009$; P3: $F=14.15$, $p=0.001$; P4: $F=12.19$, $p=0.002$; P7: $F=8.80$, $p=0.008$; P8: $F=7.53$, $p=0.013$; Pz: $F=10.79$, $p=0.004$) (**Figura 5**). Le direzioni di tali variazioni indicano un significativo decremento di potenza spettrale per bande di frequenze più lente (delta e theta) e incremento per le bande di frequenze più rapide (beta1 e beta2) nella condizione di stimolazione Attiva rispetto alla condizione *Sham*. In particolare, il decremento del delta in condizione di stimolazione Attiva si estende diffusamente in gran parte della topografia corticale, mentre appare confinato in area fronto-centrale per quanto riguarda il theta. L'incremento del beta risulta invece lateralizzato e circoscritto (area corticale posteriore sinistra) per quanto riguarda il beta1 e maggiormente distribuito (area corticale posteriore bilaterale) per quanto riguarda la banda di frequenza beta2.

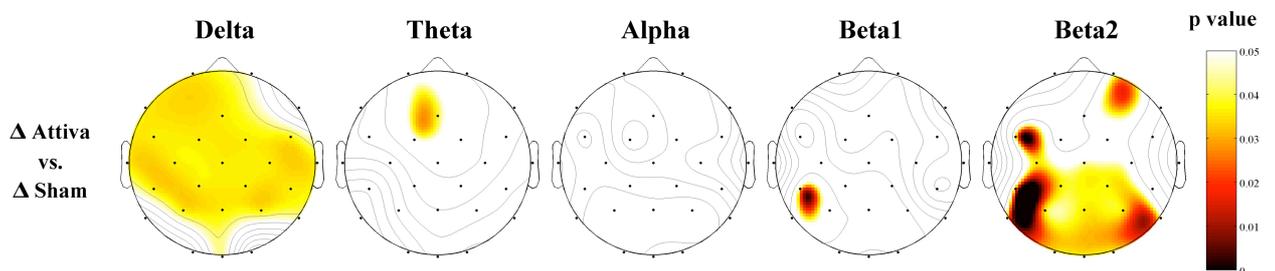


Figura 5. Mappe topografiche dei valori significativi ($p < 0.05$) dell'effetto principale del fattore *Stimolazione*, derivanti dai confronti statistici eseguiti tramite ANOVA mista (*Stimolazione x Fase*) e relativi alle potenze spettrali nelle bande di frequenza delta (1-4 Hz), theta (5-7 Hz), alpha (8-12 Hz), beta1 (13-15 Hz) e beta2 (16-24 Hz).

Correzione per confronti multipli effettuata tramite FDR.

- Latenza di addormentamento (SOL)

A livello descrittivo, le variazioni post-pre stimolazione della latenza di addormentamento (SOL) nelle due condizioni di stimolazione indicano un incremento (~50%) nella condizione di stimolazione Attiva, rispetto ad un decremento (~10%) a seguito di stimolazione *Sham* (**Figura 6**).

I risultati dell'ANOVA mista (Stimolazione x Fase) relativa alla variabile SOL (sec) sono indicativi dell'assenza di un significativo effetto di interazione ($F_{18,1} = 3.19$, $p = 0.091$) e della presenza un effetto principale dei fattori Stimolazione ($F_{18,1} = 5.041$, $p = 0.038$) e, al limite della significatività, del fattore Fase ($F_{18,1} = 4.533$, $p = 0.047$). In particolare, tali effetti sono in direzione di un incremento della latenza di addormentamento in seguito a stimolazione Attiva rispetto alla condizione *Sham*, ancor più robusto nel gruppo di soggetti che ha ricevuto la stimolazione Attiva nella fase pomeridiana (*Tabella 1*).

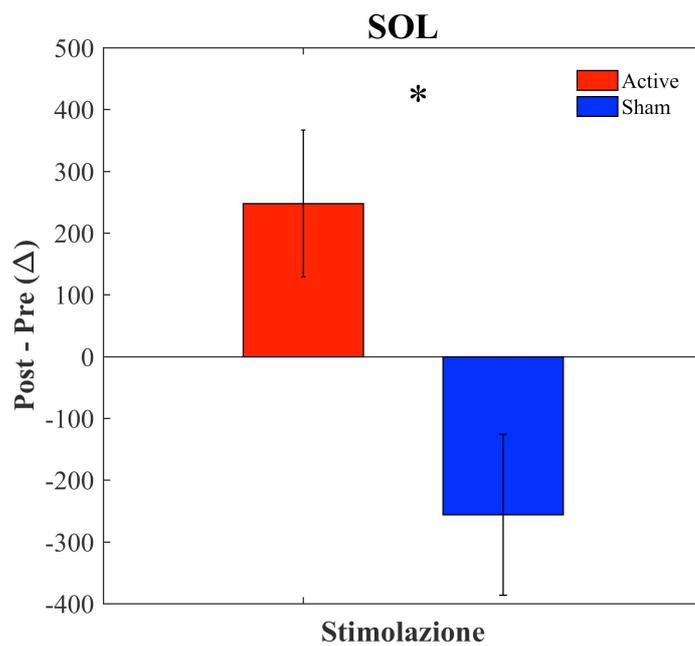


Figura 6. Istogrammi rappresentativi delle variazioni post-pre stimolazione (Δ) della latenza di addormentamento (SOL, sec) rilevate in condizioni di stimolazione Attiva (in rosso) e Sham (in blu). Le barre di errore rappresentano gli errori standard.

SOL			
Stimolazione (S)*	Δ Attiva		Δ Sham
	248.1		-255.9
Fase (F)*	Δ AM		Δ AP
	178.6		-186.4
S x F	Δ Attiva - AM	Δ Sham - AM	Δ Attiva - AP
	302.6	54.6	193.6
			Δ Sham - AP
			-566.4

Tabella 1. Valori medi rappresentativi della variazione (post-pre stimolazione, Δ) della latenza di addormentamento (SOL, sec) relativi ai fattori Stimolazione (Attiva, Sham) e Fase (Attiva Mattina - AM, Attiva Pomeriggio - AP) e alla loro interazione (Stimolazione x Fase).

Sonnolenza comportamentale

A livello descrittivo, le variazioni post – pre-stimolazione della Mediana dei TR (ms) nelle due condizioni di stimolazione indicano un decremento (~10%) nella condizione di stimolazione Attiva, rispetto ad un lieve incremento in seguito di stimolazione *Sham* (**Figura 7**).

I risultati dell'ANOVA mista (Stimolazione x Fase) descrivono la presenza di un significativo effetto di interazione tra i due fattori ($F_{21,1}=13.672$, $p=0.001$) e di un effetto principale significativo per il fattore Stimolazione ($F_{21,1}=6.658$, $p=0.017$) e non significativo per il fattore Fase ($F_{21,1}=0.472$, $p=0.499$).

Nello specifico, i risultati mostrano una significativa riduzione dei TR in condizione di stimolazione Attiva rispetto alla *Sham*, se si considera il campione totale di soggetti (**Tabella 2**). Scomponendo il fattore di interazione mediante analisi *post hoc* per osservare separatamente i due gruppi (AM, AP) nelle diverse condizioni (Attiva, *Sham*), si evidenzia una significativa riduzione dei TR ($t=-4.229$, $p=0.001$) nel campione di soggetti che ha ricevuto la stimolazione Attiva in fase pomeridiana (AP), e, al contrario, un incremento (non significativo) dei TR ($t=0.868$, $p=0.4$) per i soggetti che hanno ricevuto la stimolazione Attiva la mattina (AM) (**Tabella 2**).

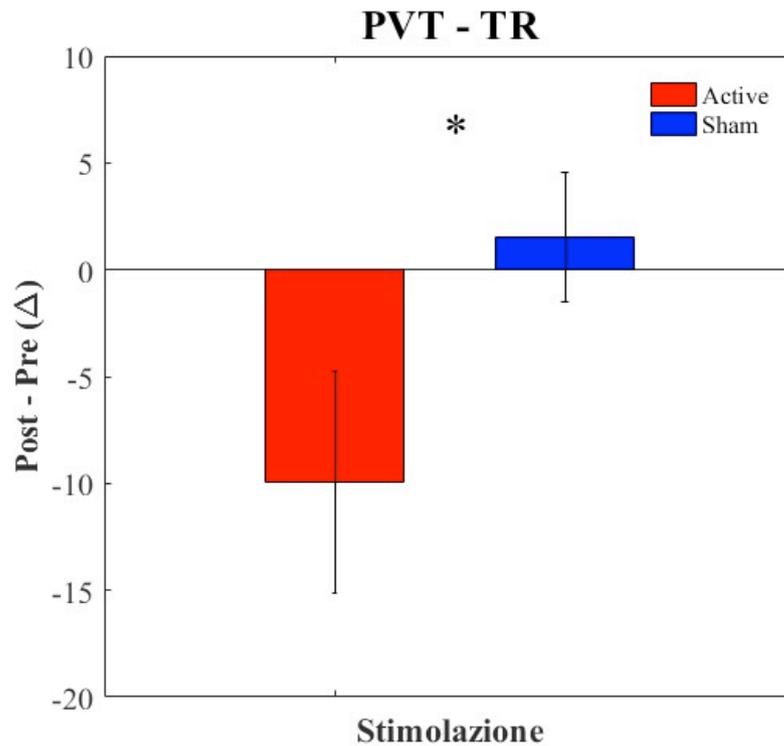


Figura 7. Istogrammi rappresentativi delle variazioni post-pre stimolazione (Δ) dei tempi di reazione (TR, ms) al test PVT, osservate in condizioni di stimolazione Attiva (in rosso) e Sham (in blu). Le barre di errore rappresentano gli errori standard.

PVT				
Stimolazione (S)*	Δ Attiva		Δ Sham	
	-9.93		1.52	
Fase (F)	Δ AM		Δ AP	
	-1.27		-7.40	
S x F*	Δ Attiva - AM	Δ Sham - AM	Δ Attiva - AP	Δ Sham - AP
	0.70	-3.25	-21.54	6.72

Tabella 2. Valori medi rappresentativi della variazione (post-pre stimolazione, Δ) dei tempi di reazione (TR, ms) relativi ai fattori Stimolazione (Attiva, Sham) e Fase (Attiva Mattina - AM, Attiva Pomeriggio - AP) e alla loro interazione (Stimolazione x Fase).

Sonnolenza soggettiva

Per quanto riguarda i punteggi ottenuti al questionario KSS, le variazioni del punteggio globale (grado di sonnolenza auto-percepita) post-pre stimolazione nelle due condizioni di stimolazione indicano un decremento dei livelli di sonnolenza auto-percepita nella condizione di stimolazione Attiva, rispetto ad un incremento a seguito di stimolazione Sham (**Figura 8(A)**). I punteggi differenziali ottenuti al questionario VAS (scala “sonnolenza”) nelle due condizioni mostrano un andamento sovrapponibile a quanto riscontrato nella scala KSS: decremento dei livelli di sonnolenza in condizione di stimolazione Attiva, rispetto ad un incremento successivo a stimolazione Sham (**Figura 8(B)**).

I risultati dell’ANOVA mista (Stimolazione x Fase) relativa al punteggio globale ottenute alle due scale di sonnolenza utilizzate (KSS, VAS) indicano l’assenza di risultati significativi attribuiti sia all’effetto di interazione (KSS: $F_{21,1}=0.649$, $p=0.430$; VAS: $F_{21,1}=1.625$, $p=0.216$), che agli effetti principali dei singoli fattori Stimolazione (KSS: $F_{21,1}=0.897$, $p=0.354$; VAS: $F_{21,1}=2.966$, $p=0.100$) e Fase (KSS: $F_{21,1}=1.293$, $p=0.268$; VAS: $F_{21,1}=0.268$, $p=0.457$).

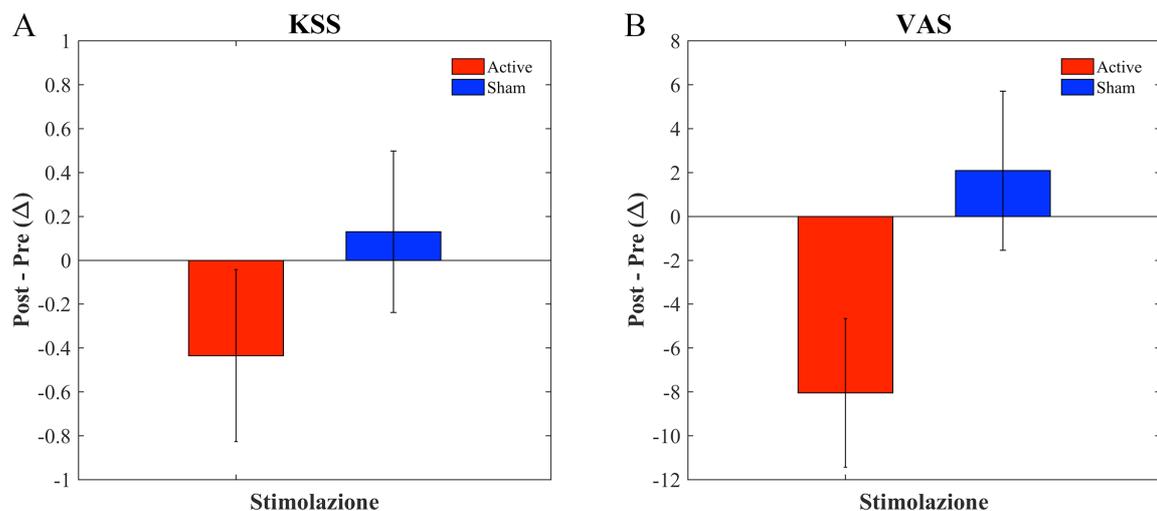


Figura 8. *Figura 8. Istogrammi rappresentativi delle variazioni post-pre stimolazione (Δ) dei livelli di sonnolenza auto-riferiti riportati nelle scale KSS (A) e VAS (B), in condizioni di stimolazione Attiva (in rosso) e Sham (in blu). Le barre di errore rappresentano gli errori standard.*

A

KSS

Stimolazione (S)	Δ Attiva		Δ Sham	
	-0.43		0.13	
Fase (F)	Δ AM		Δ AP	
	-0.4		0.13	
S x F	Δ Attiva - AM	Δ Sham - AM	Δ Attiva - AP	Δ Sham - AP
	-0.91	0.08	0.09	0.18

B

VAS				
Stimolazione (S)	Δ Attiva		Δ Sham	
	-8.04		2.08	
Fase (F)	Δ AM		Δ AP	
	-4.12		-1.72	
S x F	Δ Attiva - AM	Δ Sham - AM	Δ Attiva - AP	Δ Sham - AP
	-14.66	6.41	-0.81	-2.63

Tabella 3. Valori medi rappresentativi della variazione (post-pre stimolazione, Δ) del punteggio globale alle scale di sonnolenza KSS (A) e VAS (B) relativi ai fattori Stimolazione (Attiva, Sham) e Fase (Attiva Mattina - AM, Attiva Pomeriggio - AP) e alla loro interazione (Stimolazione x Fase).

3.3.2 Correlazione tra effetti riscontrati su differenti indici di sonnolenza

I coefficienti di correlazione lineare (r di Pearson) calcolati tra le variazioni di potenza spettrale nella condizione Attiva (Δ Power) e le variazioni delle misurazioni ottenute al PVT (Δ PVT), al KSS (Δ KSS) e alla VAS (Δ VAS), sempre in condizione di stimolazione Attiva, hanno fornito i risultati presentati in **Figura 9**.

Nessun coefficiente di correlazione ha mantenuto valori statisticamente significativi in seguito a correzione per confronti multipli, eseguita tramite FDR. Tuttavia, considerando il canonico valore di rigetto dell'ipotesi nulla ($\alpha_{\text{critico}} < 0.05$), è possibile osservare correlazioni positive statisticamente rilevanti tra variazioni dei TR (Δ PVT) e variazioni della potenza spettrale (Δ Power) per le bande delta (C3: $r = 0.47$, $p = 0.034$; Cp1: $r = 0.49$, $p = 0.028$; Cp5:

$r=0.47$, $p=0.036$; Cz: $r=0.44$, $p=0.047$; Fc1: $r=0.46$, $p=0.038$; Fc2: $r=0.47$, $p=0.032$; Fc6: $r=0.44$, $p=0.047$; Fz: $r=0.47$, $p=0.034$; P3: $r=0.47$, $p=0.033$; P7: $r=0.45$, $p=0.043$) e theta (C3: $r=0.53$, $p=0.014$; Cp1: $r=0.54$, $p=0.012$; Cp5: $r=0.45$, $p=0.043$; Cz: $r=0.49$, $p=0.027$; Fc1: $r=0.55$, $p=0.011$; Fc2: $r=0.49$, $p=0.027$; Fz: $r=0.55$, $p=0.011$; P3: $r=0.52$, $p=0.017$). In particolare, tale dato riflette un peggioramento della *performance* al PVT (incremento dei RT) direttamente proporzionale ad un aumento della potenza spettrale in aree prevalentemente frontali per quanto riguarda le bande di frequenze lente (incremento *Power* delta e theta).

A scopo puramente descrittivo, è possibile notare che la distribuzione topografica dei coefficienti di correlazione illustrata in **Figura 9** mostra un generico *trend* di correlazione positiva riferito alla *Power* del ritmo EEG delta, viceversa un *trend* di correlazione negativa è osservabile in relazione alla *Power* del ritmo EEG beta2. Tale andamento si mantiene stabile e coerente tra i diversi indici di sonnolenza considerati (Δ PVT, Δ KSS, Δ VAS).

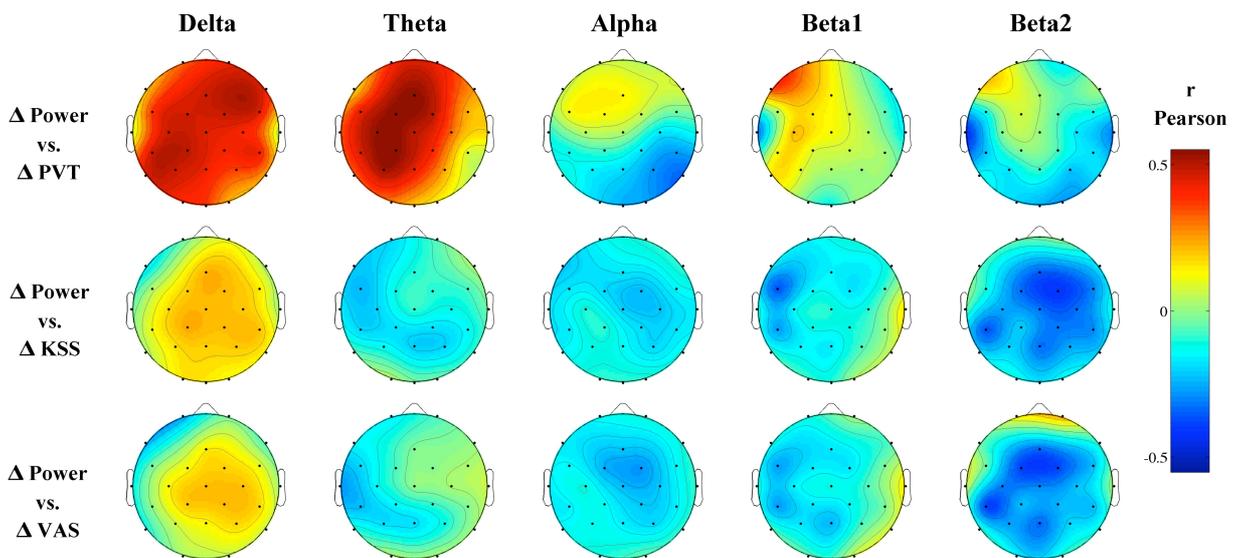


Figura 9. Distribuzione topografica dei coefficienti di correlazione di Pearson riscontrati nella condizione di stimolazione Attiva tra variazioni post-pre stimolazione (Δ Power) associate alle potenze spettrali delle diverse bande considerate (delta, theta, alpha, beta1, beta2) comparate rispettivamente alle variazioni post-pre stimolazione riferite alla mediana dei TR (Δ PVT) e al punteggio globale alle due scale di sonnolenza (Δ KSS, Δ VAS). I valori sono espressi in termini di r di Pearson: valori positivi indicano

correlazione positiva e viceversa. Correzione per confronti multipli effettuata tramite FDR.

3.4 Discussione

Il presente lavoro si inserisce nella generale prospettiva che mira a valutare la capacità della tES di interferire con la fisiologia corticale spontanea, determinando una conseguente alterazione dei livelli di sonnolenza e vigilanza. Nello specifico, l'obiettivo dello studio è stato facilitare la manifestazione di attività EEG rapida (processo di desincronizzazione) e/o diminuire quella lenta (processo di sincronizzazione), in direzione di un conseguente incremento della vigilanza e/o riduzione dei livelli di sonnolenza.

In accordo con gli scopi della ricerca, il protocollo di stimolazione ha previsto l'utilizzo di tDCS anodica, applicata su un campione soggetti in stato di veglia rilassata, nei quali aumentati livelli di sonnolenza sono stati artificialmente indotti mediante deprivazione parziale di sonno nella notte precedente la sessione sperimentale.

Stante la natura multidimensionale dei costrutti psicofisiologici indagati, sono stati considerati indici sia oggettivi (fisiologici e comportamentali) che soggettivi nella valutazione degli effetti complessivi della stimolazione.

Per quanto riguarda la sonnolenza fisiologica, mediante l'utilizzo di un protocollo MWT è stato possibile valutare l'abilità di mantenimento dello stato di veglia da parte dei soggetti, considerando sia un aspetto quantitativo legato al tempo impiegato ad addormentarsi (SOL), sia un aspetto qualitativo legato al pattern elettrofisiologico (potenze spettrali) esibito durante la prova. In entrambi i casi, l'applicazione del protocollo di stimolazione ha prodotto un miglioramento della resistenza all'addormentamento, diversamente da quanto riscontrato nella condizione di controllo (stimolazione *Sham*). Nello specifico, è stato osservato un significativo incremento della latenza di addormentamento nelle prove previste dall'MWT, espressivo di una maggiore capacità di resistenza al sonno. In merito alle variazioni elettrofisiologiche, l'effetto della stimolazione ha prodotto in un generico innalzamento dei livelli di *arousal* corticale, come evidenziato dall'incremento della potenza spettrale associata a ritmi EEG rapidi e desincronizzati (beta1 e beta2), parallelo al decremento della potenza spettrale di ritmi EEG lenti e sincronizzati (delta e theta), più consistente in aree fronto-centrali. Tali configurazioni elettrofisiologiche illustrano una chiara dissociazione con quanto riscontrato in condizione di stimolazione *Sham*, a conferma dell'ipotesi secondo cui la stimolazione anodica avrebbe facilitato uno stato di

attivazione corticale in grado di interferire con il naturale processo di addormentamento, spontaneamente esibito in condizioni di elevata propensione al sonno (stato di parziale deprivazione).

Da un punto di vista topografico, la distribuzione spaziale degli effetti riscontrati rispecchia l'esistenza di fenomeni noti in letteratura, con riferimento alla sensibilità delle aree corticali frontali nell'espressione del fisiologico bisogno di sonno mediante *marker* specifici come il theta (in condizioni di *baseline*) o il delta (in condizione di aumentata propensione al sonno) (De Gennaro et al., 2007; Finelli et al., 2000; Hung et al., 2013; Tinguely et al., 2006; Vyazovskiy et al., 2011). Inoltre, considerata la specifica tipologia di montaggio bilaterale utilizzata, si potrebbe ipotizzare la stimolazione (diretta o indiretta) di alcune strutture cerebrali medialie (p.e. talamo e ippocampo), interessate dal passaggio di corrente tra i due elettrodi di stimolazione posti anteriormente e i due di riferimento situati in aree posteriori. In particolare, questa eventuale stimolazione potrebbe aver avuto ripercussioni nella determinazione complessiva degli effetti, tendendo in considerazione il ruolo fondamentale di strutture sottocorticali quali talamo ed ippocampo nella precoce sincronizzazione dell'attività EEG, tipica del processo di addormentamento (Magnin et al., 2010; Nobili et al., 2012; Sarasso et al., 2014).

Gli effetti specifici attribuiti alla stimolazione tDCS con polarità anodica appaiono in linea con quanto riscontrato in studi precedenti, nei quali si attesta un generico incremento delle potenze spettrali nel *range* di frequenza del beta (Antal et al., 2004; Keeser et al., 2011; Maeoka et al., 2012; Thibaut et al., 2017) e, viceversa, una diminuzione nel *range* di frequenze delta, theta e alpha (Jakobson et al., 2012; Keeser et al., 2011; Maeoka et al., 2012; Wirth et al., 2011) a seguito dell'applicazione della medesima tipologia di stimolazione.

Nel contesto specifico di applicazione nell'ambito della modulazione dei livelli di sonnolenza, i risultati integrano il quadro di evidenze rappresentate da studi in cui è stata osservata una riduzione oggettiva di elevati livelli di sonnolenza (Frase et al., 2015; Galbiati et al., 2016) o una modulazione delle spontanee dinamiche EEG coinvolte nelle fasi di transizione veglia-sonno (D'Atri et al., 2016; D'Atri et al., 2017).

Come sottolineato diverse volte nel corso della trattazione, la sonnolenza si esprime attraverso molteplici dimensioni. L'aspetto comportamentale della sonnolenza, strettamente connesso al concetto di vigilanza o attenzione protratta nel tempo, è stato indagato mediante un noto e attendibile test di vigilanza psicomotoria (PVT), ampiamente utilizzato per testare la *performance* in soggetti deprivati di sonno (Reifman et al., 2018). Il

task, basato sulla quantificazione dei tempi di risposta alla comparsa di stimoli visivi, ha mostrato un significativo incremento nella reattività allo stimolo a seguito della somministrazione di stimolazione Attiva. Tale dato, coerente con quanto riscontrato dal punto di vista fisiologico, indica un incremento dei livelli di vigilanza e attenzione sostenuta, riflesso nella maggiore rapidità nel fornire la risposta al test. La riduzione dei tempi di reazione agli stimoli *target* presentati avvalorava l'ipotesi di una riduzione del calo attenzionale osservato durante compiti prolungati, associata a stimolazione tDCS anodica in aree fronto-parietali (*network* attenzionale) (McIntire et al., 2014, 2017; Nelson et al., 2014).

Le misure di sonnolenza *self-report*, costituite da scale di tipo *Likert* o visuo-analogico, rappresentano lo strumento più semplice e diretto rispetto al costrutto analizzato. In merito a questa variabile soggettiva non sono state riscontrate significative variazioni legate agli specifici effetti della stimolazione. Questa dissociazione conferma l'elevato grado di discordanza tra differenti tipologie di misurazioni della sonnolenza considerate (D'Atri et al., 2016; D'Atri et al., 2017), supportando l'ipotesi di meccanismi eziologici differenziati alla base di aspetti oggettivi o soggettivi legati alla sonnolenza.

Per sondare ulteriormente tale di aspetto di concordanza rispetto ad indici di sonnolenza di diversa natura, sono stati correlati gli effetti riscontrati a seguito di stimolazione Attiva tra le diverse variabili: fisiologiche, comportamentali e soggettive. Solo una debole correlazione positiva tra potenza spettrale di delta e theta e tempi di reazione al PVT è stata riscontrata, nella quale si riflette una relazione lineare tra l'incremento di delta e theta in aree corticali frontali (espressione di sonnolenza) e l'incremento dei tempi di reazione (espressione di rallentamento psicomotorio). La diretta associazione tra aumento dei livelli di sonnolenza fisiologica e peggioramento della *performance* comportamentale conferma quanto riscontrato in precedenti studi (Bernardi et al., 2015; Fattinger et al., 2017; Gorgoni et al., 2014; Nir et al., 2017).

A nostra conoscenza, questo rappresenta il primo studio in cui gli effetti della tES sulla sonnolenza sono stati indagati secondo un approccio multidimensionale, tenendo conto di concomitanti parametri fisiologici (EEG), soggettivi (questionari auto-riferiti) e comportamentali (PVT).

Da un punto di vista metodologico, lo studio presenta alcuni di punti di forza legati a determinate scelte procedurali. In particolare, la selezione di aree frontali come sito bersaglio della stimolazione è stata guidata dall'evidenza che tali regioni corticali mostrino precoci *pattern* di sincronizzazione EEG, tipici della fase di addormentamento (Marzano et

al., 2013). Dunque, mediante l'incremento di eccitabilità corticale (desincronizzazione EEG) a carico di tali aree, la stimolazione anodica ha avuto l'obiettivo di contrastare la genesi e la diffusione di tali *pattern*. Inoltre, è stata utilizzata una tipologia di montaggio bilaterale degli elettrodi di stimolazione, la cui maggiore efficacia rispetto a stimolazioni unilaterali è spiegata da possibili esiti cumulativi di quanto occorre contemporaneamente in ciascun emisfero (Naros et al., 2016). Al fine di massimizzare la durata degli effetti indotti dalla stimolazione, è stato impiegato un protocollo di stimolazione ripetuta (due blocchi di stimolazione con ISI di 20 minuti). Rispetto alla somministrazione in un'unica soluzione, tale modalità sembrerebbe associata all'attivazione di sottostanti meccanismi di potenziamento/depressione a lungo termine (LTP/LTD) (Monte-Silva et al., 2013).

Nonostante la presenza di tali accorgimenti, è opportuno sottolineare alcune criticità riscontrate nell'implementazione del protocollo utilizzato. Il limite principale della procedura sperimentale risiede nella collocazione di entrambe le sessioni (stimolazione Attiva e *Sham*) all'interno della medesima giornata. Tale scelta è stata inizialmente dettata dalla volontà di agevolare un previsto confronto con un gruppo clinico (pazienti con OSAS) in ricovero ambulatoriale presso la struttura ospedaliera in cui sarebbe avvenuto l'esperimento. Mentre questo protocollo è ancora in corso di svolgimento e i suoi risultati non possono essere qui descritti, la necessità di limitare a un'unica giornata la valutazione dei pazienti ha determinato l'obbligata scelta di un disegno paragonabile anche per il campione di normodormitori. Questa opzione, per certi versi vantaggiosa, ha introdotto due fondamentali problematiche. La prima riguarda la mancata garanzia di un completo *wash-out* degli effetti indotti dalla stimolazione, nel caso di pre-avvenuta stimolazione Attiva. A tal proposito, le due stimolazioni (reale e di controllo) sono state il più possibile distanziate (4 ore), compatibilmente con l'esecuzione dell'intera procedura. La seconda questione riguarda il possibile interessamento della fascia oraria post-prandiale, caratterizzata da fisiologiche variazioni dei livelli di sonnolenza, parametro cruciale dello studio. L'utilizzo di un'apposita analisi che ha permesso di considerare l'eventuale influenza del momento della giornata in cui è avvenuta la stimolazione ha consentito, entro certi limiti, di controllare statisticamente la presenza di tale fenomeno. In particolare, i risultati dell'ANOVA mista (Stimolazione x Fase) relativi alla sonnolenza comportamentale (*performance* al PVT) hanno illustrato effetti differenziati della stimolazione in funzione del momento della giornata in cui ha avuto luogo, in direzione di un significativo incremento della *performance* verificato solo nel caso di stimolazione in fase pomeridiana. In tale fase, l'effetto additivo del fisiologico calo della sonnolenza (fase

post-prandiale) e dell'incrementata pressione verso il sonno (aumento delle ore di deprivazione) potrebbe aver favorito l'esacerbarsi dell'azione attivante indotta dalla stimolazione, diversamente da quanto verificatosi nella sessione mattutina. Il PVT si configura infatti come una delle misurazioni di variazioni di sonnolenza maggiormente sensibile a fattori sia omeostatici che circadiani (Wright et al., 2002; Wyatt et al., 1997).

Infine, in virtù degli effetti polarità-specifici della tDCS, sarebbe stato interessante osservare gli esiti complementari prodotti dalla tDCS in modalità catodica (inibitoria). Se infatti da un lato la stimolazione anodica è connessa ad un incremento delle frequenze EEG più rapide, la stimolazione catodica è stata associata ad una riduzione della potenza spettrale di ritmi EEG rapidi come il beta e il gamma (Antal et al., 2004), e viceversa all'incremento dei ritmi lenti theta e delta (Ardolino et al., 2005).

In studi futuri sarà opportuno considerare la possibilità di utilizzare un approccio simultaneo (*online*) che permetta di osservare in tempo reale gli effetti diretti della stimolazione. Tale criterio permetterebbe sia di esplorare più nel dettaglio i fenomeni che sottendono la specifica alterazione delle dinamiche elettrofisiologiche in corso, sia di valutare le conseguenze dirette della stimolazione durante l'esecuzione di una determinata *performance* (Fertonani & Miniussi, 2017). Inoltre, poiché l'azione neuromodulatoria della tDCS non è confinata alla sola regione corticale stimolata (Mancini et al., 2016; Polanía et al., 2011), l'integrazione di analisi di connettività del segnale EEG potrebbe fornire una descrizione più completa e dettagliata degli effetti della stimolazione, considerando anche le alterazioni prodotte a livello di *network* funzionali.

CONCLUSIONI

Diversi studi convergono nella definizione di un modello *top-down* di regolazione dei ritmi sonno-veglia, nel quale mediante specifici *input* ai sistemi sottocorticali promotori della veglia e del sonno, la corteccia cerebrale svolge un ruolo decisivo nella regolazione dello stato di *arousal*. È in funzione dell'esistenza di tali meccanismi che si basa il razionale dell'impiego delle tecniche di stimolazione transcranica nell'ambito del sonno e della vigilanza. Se infatti le tradizionali terapie farmacologiche per gli specifici disturbi del sonno agiscono attraverso l'interazione con determinati sostanze neurotrasmettitoriali implicate nei circuiti di regolazione *bottom-up*, la possibilità di modulare lo stato di eccitazione di una specifica area corticale mediante tDCS permette di alterare funzionalmente i pattern corticali elettrofisiologici agendo direttamente sui meccanismi regolatori *top-down*.

La tDCS si configura come una tecnica sofisticata e promettente grazie ai principi di funzionamento sui quali essa è basata. Tuttavia, tali principi determinano al tempo stesso la natura estremamente complessa del suo utilizzo. Numerose variabili devono essere tenute in considerazione nella determinazione complessiva degli effetti, osservando in particolar modo la stretta dipendenza tra parametri di stimolazione utilizzati (intensità, frequenza, aree bersaglio della corrente) e condizione di attivazione EEG endogena sulla quale si agisce mediante stimolazione.

Ricerche future permetteranno di chiarire ulteriormente i principi di funzionamento delle tecniche di stimolazione e le complesse dinamiche elettrofisiologiche cerebrali, consentendo l'individuazione dei parametri procedurali e metodologici ottimali in grado di garantire il raggiungimento degli effetti desiderati.

Nel complesso, sulla base dei risultati ottenuti è possibile stabilire l'efficacia dello specifico protocollo di stimolazione utilizzato nel contrastare l'espressione del fisiologico processo di addormentamento, coerentemente con l'ipotesi di partenza e con la letteratura di riferimento.

Da un punto di vista scientifico ed esplorativo, le suddette tecniche rappresentano un valido strumento di indagine del coinvolgimento della componente corticale in tali circuiti di regolazione sonno-veglia, attraverso la possibilità di modularne sperimentalmente i meccanismi alla base.

Inoltre, da un punto di vista clinico-applicativo, l'individuazione dei parametri procedurali e metodologici ottimali in grado di garantire il raggiungimento degli effetti desiderati

potrebbe aprire affascinanti prospettive nel trattamento non farmacologico di alcuni disturbi del sonno. In particolare, la possibilità di contrastare la comparsa dei fenomeni legati ad alterazioni dei livelli di sonnolenza potrebbe rappresentare una possibile strategia terapeutica per popolazioni di pazienti affetti da sindromi caratterizzate da Eccessiva Sonnolenza Diurna (ESD).

Ulteriori risvolti applicativi potrebbero riguardare l'utilizzo di tali metodiche nell'ambito della regolazione dei livelli di vigilanza e/o sonnolenza in lavoratori turnisti o in merito alle strategie di potenziamento della *performance* in specifici *task* richiedenti adeguati livelli di attenzione sostenuta.

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

- Aeschbach, D., Dijk, D. J., & Borbély, A. A. (1997). Dynamics of EEG spindle frequency activity during extended sleep in humans: Relationship to slow-wave activity and time of day. *Brain Research*, 748(1–2), 131–136. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(96\)01275-9](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(96)01275-9)
- Åkerstedt, T., & Gillberg, M. (1990). Subjective and objective sleepiness in the active individual. *International Journal of Neuroscience*, 52(1–2), 29–37.
- Alekseichuk, I., Diers, K., Paulus, W., & Antal, A. (2016). Transcranial electrical stimulation of the occipital cortex during visual perception modifies the magnitude of BOLD activity: a combined tES–fMRI approach. *Neuroimage*, 140, 110–117.
- Anderer, P., Klösch, G., Gruber, G., Trenker, E., Pascual-Marqui, R. D., Zeitlhofer, J., ... Saletu, B. (2001). Low-resolution brain electromagnetic tomography revealed simultaneously active frontal and parietal sleep spindle sources in the human cortex. *Neuroscience*, 103(3), 581–592. [https://doi.org/10.1016/S0306-4522\(01\)00028-8](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(01)00028-8)
- Andersen, R. A., & Cui, H. (2009). Intention, action planning, and decision making in parietal-frontal circuits. *Neuron*, 63(5), 568–583.
- Annarumma, L., D’Atri, A., Alfonsi, V., & De Gennaro, L. (2018). The efficacy of transcranial current stimulation techniques to modulate resting-state EEG, to affect vigilance and to promote sleepiness. *Brain Sciences*, 8(7), 137.
- Antal, A., Boros, K., Poreisz, C., Chaieb, L., Terney, D., & Paulus, W. (2008). Comparatively weak after-effects of transcranial alternating current stimulation (tACS) on cortical excitability in humans. *Brain Stimulation*, 1(2), 97–105.
- Antal, A., Nitsche, M. A., Kincses, T. Z., Kruse, W., Hoffmann, K., & Paulus, W. (2004). Facilitation of visuo-motor learning by transcranial direct current stimulation of the motor and extrastriate visual areas in humans. *European Journal of Neuroscience*, 19(10), 2888–2892.
- Antal, A., & Paulus, W. (2013). Transcranial alternating current stimulation (tACS). *Frontiers in Human Neuroscience*.
- Antal, A., Terney, D., Poreisz, C., & Paulus, W. (2007). Towards unravelling task-related modulations of neuroplastic changes induced in the human motor cortex. *European Journal of Neuroscience*, 26(9), 2687–2691.
- Antal, A., Alekseichuk, I., Bikson, M., Brockmüller, J., Brunoni, A. R., Chen, R., ... Flöel, A. (2017). Low intensity transcranial electric stimulation: safety, ethical, legal regulatory and application guidelines. *Clinical Neurophysiology*, 128(9), 1774–1809.
- Antonenko, D., Diekelmann, S., Olsen, C., Born, J., & Mölle, M. (2013). Napping to renew learning capacity: enhanced encoding after stimulation of sleep slow oscillations. *European Journal of Neuroscience*, 37(7), 1142–1151.

- Archer, J. (2004). Sex differences in aggression in real-world settings: A meta-analytic review. *Review of General Psychology, 8*(4), 291–322.
- Ardolino, G., Bossi, B., Barbieri, S., & Priori, A. (2005). Non-synaptic mechanisms underlie the after-effects of cathodal transcutaneous direct current stimulation of the human brain. *The Journal of Physiology, 568*(2), 653–663.
- Babkoff, H., Caspy, T., Hishikawa, Y., & Mikulincer, M. (1991). Subjective sleepiness ratings: the effects of sleep deprivation, circadian rhythmicity and cognitive performance. *Sleep, 14*(6), 534–539.
- Baker, A. P. (1970). Brain stem polarization in the treatment of depression. *South African Medical Journal, 44*(16), 473–475.
- Barham, M. P., Enticott, P. G., Conduit, R., & Lum, J. A. (2016). Transcranial electrical stimulation during sleep enhances declarative (but not procedural) memory consolidation: evidence from a meta-analysis. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews, 63*, 65–77.
- Barnes, T. D., Kubota, Y., Hu, D., Jin, D. Z., & Graybiel, A. M. (2005). Activity of striatal neurons reflects dynamic encoding and recoding of procedural memories. *Nature, 437*(7062), 1158.
- Bastiaansen, M., & Hagoort, P. (2006). Oscillatory neuronal dynamics during language comprehension. *Progress in Brain Research, 159*, 179–196.
- Baudewig, J., Nitsche, M. A., Paulus, W., & Frahm, J. (2001). Regional modulation of BOLD MRI responses to human sensorimotor activation by transcranial direct current stimulation. *Magnetic Resonance in Medicine: An Official Journal of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine, 45*(2), 196–201.
- Bauer, E. P., Paz, R., & Paré, D. (2007). Gamma oscillations coordinate amygdalo-rhinal interactions during learning. *Journal of Neuroscience, 27*(35), 9369–9379.
- Beck, A. T., Steer, R. A., Ball, R., & Ranieri, W. F. (1996). Comparison of Beck Depression Inventories-IA and-II in psychiatric outpatients. *Journal of Personality Assessment, 67*(3), 588–597.
- Benjamini, Y., & Yekutieli, D. (2001). The control of the false discovery rate in multiple testing under dependency. *The Annals of Statistics, 29*(4), 1165–1188.
- Bente, D. (1964). Vigilanz, dissoziative Vigilanzverschiebung und Insuffizienz des Vigilanztonus. *Begleitwirkung Und Mißerfolge Der Psychiatrischen Pharmakotherapie, 13–28*.
- Berkman, E. T., & Lieberman, M. D. (2009). Using neuroscience to broaden emotion regulation: theoretical and methodological considerations. *Social and Personality Psychology Compass, 3*(4), 475–493.
- Berman, K. F., & Weinberger, D. R. (1990). Lateralisation of cortical function during cognitive tasks: regional cerebral blood flow studies of normal individuals and patients with schizophrenia. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry, 53*(2), 150–160.
- Bernardi, G., Siclari, F., Yu, X., Zennig, C., Bellesi, M., Ricciardi, E., ... Tononi, G. (2015).

- Neural and behavioral correlates of extended training during sleep deprivation in humans: evidence for local, task-specific effects. *Journal of Neuroscience*, 35(11), 4487–4500.
- Binder, S., Berg, K., Gasca, F., Lafon, B., Parra, L. C., Born, J., & Marshall, L. (2014). Transcranial slow oscillation stimulation during sleep enhances memory consolidation in rats. *Brain Stimulation*, 7(4), 508–515.
- Bindman, L. J., Lippold, O. C. J., & Redfearn, J. W. T. (1962). Long-lasting changes in the level of the electrical activity of the cerebral cortex produced by polarizing currents. *Nature*, 196(4854), 584–585.
- Bixler, E. O., Vgontzas, A. N., Lin, H.-M., Calhoun, S. L., Vela-Bueno, A., & Kales, A. (2005). Excessive daytime sleepiness in a general population sample: the role of sleep apnea, age, obesity, diabetes, and depression. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 90(8), 4510–4515.
- Boggio, P. S., Zaghi, S., Villani, A. B., Fecteau, S., Pascual-Leone, A., & Fregni, F. (2010). Modulation of risk-taking in marijuana users by transcranial direct current stimulation (tDCS) of the dorsolateral prefrontal cortex (DLPFC). *Drug and Alcohol Dependence*, 112(3), 220–225.
- Bonnet, M. H. (1987). Sleep restoration as a function of periodic awakening, movement, or electroencephalographic change. *Sleep*, 10(4), 364–373.
- Bonnet, M. H., & Arand, D. L. (1995). We are chronically sleep deprived. *Sleep*, 18(10), 908–911.
- Borbély, A. A. (1982). A two process model of sleep regulation. *Hum Neurobiol*, 1(3), 195–204.
- Boroojerdi, B., Phipps, M., Kopylev, L., Wharton, C. M., Cohen, L. G., & Grafman, J. (2001). Enhancing analogic reasoning with rTMS over the left prefrontal cortex. *Neurology*, 56(4), 526–528.
- Bortoletto, M., Rodella, C., Salvador, R., Miranda, P. C., & Miniussi, C. (2016). Reduced current spread by concentric electrodes in transcranial electrical stimulation (tES). *Brain Stimulation*, 9(4), 525–528.
- Botvinick, M. M., Braver, T. S., Barch, D. M., Carter, C. S., & Cohen, J. D. (2001). Conflict monitoring and cognitive control. *Psychological Review*, 108(3), 624.
- Boutrel, B., & Koob, G. F. (2004). What keeps us awake: the neuropharmacology of stimulants and wakefulness promoting medications. *Sleep*, 27(6), 1181–1194.
- Bouyer, J. J., Montaron, M. F., & Rougeul, A. (1981). Fast fronto-parietal rhythms during combined focused attentive behaviour and immobility in cat: cortical and thalamic localizations. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, 51(3), 244–252.
- Brinkman, L., Stolk, A., Marshall, T. R., Esterer, S., Sharp, P., Dijkerman, H. C., ... Toni, I. (2016). Independent causal contributions of alpha-and beta-band oscillations during movement selection. *Journal of Neuroscience*, 36(33), 8726–8733.
- Brittain, J.-S., Probert-Smith, P., Aziz, T. Z., & Brown, P. (2013). Tremor suppression by rhythmic

- transcranial current stimulation. *Current Biology*, 23(5), 436–440.
- Broughton, R., Aguirre, M., & Dunham, W. (1988). A comparison of multiple and single sleep latency and cerebral evoked potential (P300) measures in the assessment of excessive daytime sleepiness in narcolepsy-cataplexy. *Sleep*, 11(6), 537–545.
- Brown, R. E. (2001). Stevens DR, Haas HL. *The Physiology of Brain Histamine. Prog Neurobiol*, 63, 637–672.
- Buchsbaum, M. S., Nuechterlein, K. H., Haier, R. J., Wu, J., Sicotte, N., Hazlett, E., ... Guich, S. (1990). Glucose metabolic rate in normals and schizophrenics during the continuous performance test assessed by positron emission tomography. *The British Journal of Psychiatry*, 156(2), 216–227.
- Buzsáki, G., & Draguhn, A. (2004). Neuronal oscillations in cortical networks. *Science*, 304(5679), 1926–1929.
- Buzsáki, G., & Wang, X.-J. (2012). Mechanisms of gamma oscillations. *Annual Review of Neuroscience*, 35, 203–225.
- Cajochen, C., Foy, R., & Dijk, D.-J. (1999). Frontal predominance of a relative increase in sleep delta and theta EEG activity after sleep loss in humans. *Sleep Res Online*, 2(3), 65–69.
- Caplan, J. B., Madsen, J. R., Raghavachari, S., & Kahana, M. J. (2001). Distinct patterns of brain oscillations underlie two basic parameters of human maze learning. *Journal of Neurophysiology*, 86(1), 368–380.
- Cardin, J. A., Palmer, L. A., & Contreras, D. (2005). Stimulus-dependent γ (30-50 Hz) oscillations in simple and complex fast rhythmic bursting cells in primary visual cortex. *Journal of Neuroscience*, 25(22), 5339–5350.
- Carney, C. E., Buysse, D. J., Ancoli-Israel, S., Edinger, J. D., Krystal, A. D., Lichstein, K. L., & Morin, C. M. (2012). The consensus sleep diary: standardizing prospective sleep self-monitoring. *Sleep*, 35(2), 287–302.
- Carney, M. W. P., Cashman, M. D., & Sheffield, B. F. (1970). Polarization in depression. *The British Journal of Psychiatry*, 117(539), 474–475.
- Carracedo, L. M., Kjeldsen, H., Cunningham, L., Jenkins, A., Schofield, I., Cunningham, M. O., ... Whittington, M. A. (2013). A neocortical delta rhythm facilitates reciprocal interlaminar interactions via nested theta rhythms. *Journal of Neuroscience*, 33(26), 10750–10761.
- Carskadon, M. A., & Dement, W. C. (1977). Sleep tendency: an objective measure of sleep loss. *Sleep Res*, 6(200), 940.
- Carskadon, M. A., & Dement, W. C. (1982). The multiple sleep latency test: what does it measure? *Sleep: Journal of Sleep Research & Sleep Medicine*.
- Casagrande, M., Violani, C., Curcio, G., & Bertini, M. (1997). Assessing vigilance through a brief pencil and paper letter cancellation task (LCT): effects of one night of sleep deprivation and of the time of day. *Ergonomics*, 40(6), 613–630.

- Chan, C. Y., & Nicholson, C. (1986). Modulation by applied electric fields of Purkinje and stellate cell activity in the isolated turtle cerebellum. *The Journal of Physiology*, *371*(1), 89–114.
- Chellappa, S. L., Schröder, C., & Cajochen, C. (2009). Chronobiology, excessive daytime sleepiness and depression: is there a link? *Sleep Medicine*, *10*(5), 505–514.
- Chemelli, R. M., Willie, J. T., Sinton, C. M., Elmquist, J. K., Scammell, T., Lee, C., ... Kisanuki, Y. (1999). Narcolepsy in orexin knockout mice: molecular genetics of sleep regulation. *Cell*, *98*(4), 437–451.
- Chou, T. C., Bjorkum, A. A., Gaus, S. E., Lu, J., Scammell, T. E., & Saper, C. B. (2002). Afferents to the ventrolateral preoptic nucleus. *Journal of Neuroscience*, *22*(3), 977–990.
- Chou, T. C., Lee, C. E., Lu, J., Elmquist, J. K., Hara, J., Willie, J. T., ... Yanagisawa, M. (2001). Orexin (hypocretin) neurons contain dynorphin. *Journal of Neuroscience*, *21*(19), RC168-RC168.
- Cirelli, C., Pompeiano, M., & Tononi, G. (1996). Neuronal gene expression in the waking state: a role for the locus coeruleus. *Science*, *274*(5290), 1211–1215.
- Clark, V. P., Coffman, B. A., Mayer, A. R., Weisend, M. P., Lane, T. D. R., Calhoun, V. D., ... Wassermann, E. M. (2012). TDCS guided using fMRI significantly accelerates learning to identify concealed objects. *Neuroimage*, *59*(1), 117–128.
- Cluydts, R., De Valck, E., Verstraeten, E., & Theys, P. (2002). Daytime sleepiness and its evaluation. *Sleep Medicine Reviews*, *6*(2), 83–96.
- Cogiamanian, F., Marceglia, S., Ardolino, G., Barbieri, S., & Priori, A. (2007). Improved isometric force endurance after transcranial direct current stimulation over the human motor cortical areas. *European Journal of Neuroscience*, *26*(1), 242–249.
- Cohen, R. M., Semple, W. E., Gross, M., & Holcomb, H. H. (1988). Functional localization of sustained attention: Comparison to sensory stimulation in the absence of instruction. *Neuropsychiatry, Neuropsychology, & Behavioral Neurology*.
- Corsi-Cabrera, M., Munoz-Torres, Z., del Río-Portilla, Y., & Guevara, M. A. (2006). Power and coherent oscillations distinguish REM sleep, stage 1 and wakefulness. *International Journal of Psychophysiology*, *60*(1), 59–66.
- Costain, R., Redfearn, J. W. T., & Lippold, O. C. J. (1964). A controlled trial of the therapeutic effects of polarization of the brain in depressive illness. *The British Journal of Psychiatry*, *110*(469), 786–799.
- Curcio, G., Casagrande, M., & Bertini, M. (2001). Sleepiness: evaluating and quantifying methods. *International Journal of Psychophysiology*, *41*(3), 251–263.
- Czarnecki, A., Birtoli, B., & Ulrich, D. (2007). Cellular mechanisms of burst firing-mediated long-term depression in rat neocortical pyramidal cells. *The Journal of Physiology*, *578*(2), 471–479.
- D'Atri, A., De Simoni, E., Gorgoni, M., Ferrara, M., Ferlazzo, F., Rossini, P. M., & De Gennaro,

- L. (2015). Frequency-dependent effects of oscillatory-tDCS on EEG oscillations: a study with Better OSCillation detection method (BOSC). *Archives Italiennes de Biologie*, *153*(2–3), 124–134.
- D’Atri, A., De Simoni, E., Gorgoni, M., Ferrara, M., Ferlazzo, F., Rossini, P. M., & De Gennaro, L. (2016). Electrical stimulation of the frontal cortex enhances slow-frequency EEG activity and sleepiness. *Neuroscience*, *324*, 119–130.
- D’Atri, A., Romano, C., Gorgoni, M., Scarpelli, S., Alfonsi, V., Ferrara, M., ... De Gennaro, L. (2017). Bilateral 5 Hz transcranial alternating current stimulation on fronto-temporal areas modulates resting-state EEG. *Scientific Reports*, *7*(1), 15672.
- Da Silva, F. H. L., Van Lierop, T., Schrijer, C. F., & Van Leeuwen, W. S. (1973). Organization of thalamic and cortical alpha rhythms: spectra and coherences. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, *35*(6), 627–639.
- Datta, A. (2012). Inter-individual variation during transcranial direct current stimulation and normalization of dose using MRI-derived computational models. *Frontiers in Psychiatry*, *3*, 91.
- Davies, D. R., & Parasuraman, R. (1982). *The psychology of vigilance*. Academic Pr.
- Dawson, M. E., Schell, A. M., & Filion, D. L. (2007). The electrodermal system. *Handbook of Psychophysiology*, *2*, 200–223.
- De Gennaro, L., Ferrara, M., & Bertini, M. (2001). The boundary between wakefulness and sleep: quantitative electroencephalographic changes during the sleep onset period. *Neuroscience*, *107*(1), 1–11.
- De Gennaro, L., Ferrara, M., Curcio, G., & Cristiani, R. (2001). Antero-posterior EEG changes during the wakefulness–sleep transition. *Clinical Neurophysiology*, *112*(10), 1901–1911.
- De Gennaro, L., Ferrara, M., Ferlazzo, F., & Bertini, M. (2000). Slow eye movements and EEG power spectra during wake-sleep transition. *Clinical Neurophysiology*, *111*(12), 2107–2115. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1388-2457\(00\)00476-4](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1388-2457(00)00476-4)
- De Gennaro, L., Marzano, C., Veniero, D., Moroni, F., Fratello, F., Curcio, G., ... Pellicciari, M. C. (2007). Neurophysiological correlates of sleepiness: a combined TMS and EEG study. *Neuroimage*, *36*(4), 1277–1287.
- De Gennaro, L., Vecchio, F., Ferrara, M., Curcio, G., Rossini, P. M., & Babiloni, C. (2004). Changes in fronto–posterior functional coupling at sleep onset in humans. *Journal of Sleep Research*, *13*(3), 209–217.
- De Gennaro, L., Vecchio, F., Ferrara, M., Curcio, G., Rossini, P. M., & Babiloni, C. (2005). Antero-posterior functional coupling at sleep onset: changes as a function of increased sleep pressure. *Brain Research Bulletin*, *65*(2), 133–140.
- Decoster, F., & Foret, J. (1979). Sleep onset and first cycle of sleep in human subjects: change with time of day. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, *46*(5), 531–537.

- Dement, W. C., & Carskadon, M. A. (1981). An essay on sleepiness. *Actualites En Medecine Experimentale: En Homage Au Professeur P. Passouant*, 47–71.
- Deurveilher, S., & Semba, K. (2003). Indirect projections from the suprachiasmatic nucleus to the median preoptic nucleus in rat. *Brain Research*, 987(1), 100–106.
- Diekelmann, S., & Born, J. (2010). The memory function of sleep. *Nature Reviews Neuroscience*, 11(2), 114.
- Dijk, D.-J. (2009). Regulation and functional correlates of slow wave sleep. *Journal of Clinical Sleep Medicine: JCSM: Official Publication of the American Academy of Sleep Medicine*, 5(2 Suppl), S6.
- Dijk, D.-J., Brunner, D. P., Beersma, D. G. M., & Borbély, A. A. (1990). Electroencephalogram power density and slow wave sleep as a function of prior waking and circadian phase. *Sleep*, 13(5), 430–440.
- Dijk, D.-J., Brunner, D. P., Beersma, D. G. M., Borbély, A. A. (1990). Electroencephalogram power density and slow wave sleep as a function of prior waking and circadian phase. *Sleep*, 13(5), 430–440.
- Dijk, D.-J., & Cajochen, C. (1997). Melatonin and the circadian regulation of sleep initiation, consolidation, structure, and the sleep EEG. *Journal of Biological Rhythms*, 12(6), 627–635.
- Dijk, D.-J., & Czeisler, C. A. (1994). Paradoxical timing of the circadian rhythm of sleep propensity serves to consolidate sleep and wakefulness in humans. *Neuroscience Letters*, 166(1), 63–68.
- Dijk, D.-J., & von Schantz, M. (2005). Timing and consolidation of human sleep, wakefulness, and performance by a symphony of oscillators. *Journal of Biological Rhythms*, 20(4), 279–290.
- Dinges, D. F., & Kribbs, N. B. (1991). Performing while sleepy: effects of experimentally-induced sleepiness.
- Dinges, D. F., Pack, F., Williams, K., Gillen, K. A., Powell, J. W., Ott, G. E., ... Pack, A. I. (1997). Cumulative sleepiness, mood disturbance, and psychomotor vigilance performance decrements during a week of sleep restricted to 4–5 hours per night. *Sleep*, 20(4), 267–277.
- Dinges, D. F., & Powell, J. W. (1985). Microcomputer analyses of performance on a portable, simple visual RT task during sustained operations. *Behavior Research Methods, Instruments, & Computers*, 17(6), 652–655.
- Dmochowski, J. P., Koessler, L., Norcia, A. M., Bikson, M., & Parra, L. C. (2017). Optimal use of EEG recordings to target active brain areas with transcranial electrical stimulation. *Neuroimage*, 157, 69–80.
- Dockery, C. A., Hueckel-Weng, R., Birbaumer, N., & Plewnia, C. (2009). Enhancement of planning ability by transcranial direct current stimulation. *Journal of Neuroscience*, 29(22), 7271–7277.
- Doyon, J., Penhune, V., & Ungerleider, L. G. (2003). Distinct contribution of the cortico-striatal and cortico-cerebellar systems to motor skill learning. *Neuropsychologia*, 41(3), 252–262.

- Dresler, M., Eibl, L., Fischer, C. F. J., Wehrle, R., Spoormaker, V. I., Steiger, A., ... Pawlowski, M. (2014). Volitional components of consciousness vary across wakefulness, dreaming and lucid dreaming. *Frontiers in Psychology, 4*, 987.
- Duque, A., Balatoni, B., Detari, L., & Zaborszky, L. (2000). EEG correlation of the discharge properties of identified neurons in the basal forebrain. *Journal of Neurophysiology, 84*(3), 1627–1635.
- Düzel, E., Penny, W. D., & Burgess, N. (2010). Brain oscillations and memory. *Current Opinion in Neurobiology, 20*(2), 143–149.
- Edelman, G. M. (2003). Naturalizing consciousness: a theoretical framework. *Proceedings of the National Academy of Sciences, 100*(9), 5520–5524.
- Edgar, D. M., Dement, W. C., & Fuller, C. A. (1993). Effect of SCN lesions on sleep in squirrel monkeys: evidence for opponent processes in sleep-wake regulation. *Journal of Neuroscience, 13*(3), 1065–1079.
- Eggert, T., Dorn, H., Sauter, C., Nitsche, M. A., Bajbouj, M., & Danker-Hopfe, H. (2013). No effects of slow oscillatory transcranial direct current stimulation (tDCS) on sleep-dependent memory consolidation in healthy elderly subjects. *Brain Stimulation, 6*(6), 938–945.
- Eisenberg, N. (2005). The development of empathy-related responding. In *Nebraska symposium on motivation* (Vol. 51, p. 73).
- Elbert, T., Lutzenberger, W., Rockstroh, B., & Birbaumer, N. (1981). The influence of low-level transcortical DC-currents on response speed in humans. *International Journal of Neuroscience, 14*(1–2), 101–114.
- Ellenbogen, J. M., Hulbert, J. C., Stickgold, R., Dinges, D. F., & Thompson-Schill, S. L. (2006). Interfering with theories of sleep and memory: sleep, declarative memory, and associative interference. *Current Biology, 16*(13), 1290–1294.
- Engel, A. K., Fries, P., & Singer, W. (2001). Dynamic predictions: oscillations and synchrony in top-down processing. *Nature Reviews Neuroscience, 2*(10), 704.
- Fattinger, S., Kurth, S., Ringli, M., Jenni, O. G., & Huber, R. (2017). Theta waves in children's waking electroencephalogram resemble local aspects of sleep during wakefulness. *Scientific Reports, 7*(1), 11187.
- Fecteau, S., Knoch, D., Fregni, F., Sultani, N., Boggio, P., & Pascual-Leone, A. (2007). Diminishing risk-taking behavior by modulating activity in the prefrontal cortex: a direct current stimulation study. *Journal of Neuroscience, 27*(46), 12500–12505.
- Fecteau, S., Pascual-Leone, A., Zald, D. H., Liguori, P., Théoret, H., Boggio, P. S., & Fregni, F. (2007). Activation of prefrontal cortex by transcranial direct current stimulation reduces appetite for risk during ambiguous decision making. *Journal of Neuroscience, 27*(23), 6212–6218.
- Fernandez Guerrero, A., & Achermann, P. (2019). Brain dynamics during the sleep onset

- transition: An EEG source localization study. *Neurobiology of Sleep and Circadian Rhythms*, 6(October 2018), 24–34. <https://doi.org/10.1016/j.nbscr.2018.11.001>
- Ferrara, M., & De Gennaro, L. (2011). Going local: insights from EEG and stereo-EEG studies of the human sleep-wake cycle. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 11(19), 2423–2437.
- Ferrara, M., De Gennaro, L., Curcio, G., Cristiani, R., Corvasce, C., & Bertini, M. (2002). Regional differences of the human sleep electroencephalogram in response to selective slow-wave sleep deprivation. *Cerebral Cortex*, 12(7), 737–748.
- Fertonani, A., Ferrari, C., & Miniussi, C. (2015). What do you feel if I apply transcranial electric stimulation? Safety, sensations and secondary induced effects. *Clinical Neurophysiology*, 126(11), 2181–2188.
- Fertonani, A., & Miniussi, C. (2017). Transcranial electrical stimulation: what we know and do not know about mechanisms. *The Neuroscientist*, 23(2), 109–123.
- Fertonani, A., Pirulli, C., & Miniussi, C. (2011). Random noise stimulation improves neuroplasticity in perceptual learning. *Journal of Neuroscience*, 31(43), 15416–15423.
- Festinger, L. (1957). A Theory of Cognitive Dissonance (Row, Peterson, Evanston, IL). *Festinger's Theory of Cognitive Dissonance 1957*.
- Feurra, M., Pasqualetti, P., Bianco, G., Santarnecchi, E., Rossi, A., & Rossi, S. (2013). State-dependent effects of transcranial oscillatory currents on the motor system: what you think matters. *Journal of Neuroscience*, 33(44), 17483–17489.
- Feurra, M., Paulus, W., Walsh, V., & Kanai, R. (2011). Frequency specific modulation of human somatosensory cortex. *Frontiers in Psychology*, 2, 13.
- Finelli, L. A., Baumann, H., Borbély, A. A., & Achermann, P. (2000). Dual electroencephalogram markers of human sleep homeostasis: correlation between theta activity in waking and slow-wave activity in sleep. *Neuroscience*, 101(3), 523–529.
- Finelli, L. A., Borbély, A. A., & Achermann, P. (2001). Functional topography of the human nonREM sleep electroencephalogram. *European Journal of Neuroscience*, 13(12), 2282–2290.
- Fischer, S., Hallschmid, M., Elsner, A. L., & Born, J. (2002). Sleep forms memory for finger skills. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(18), 11987–11991.
- Foley, D., Monjan, A., Masaki, K., Ross, W., Havlik, R., White, L., & Launer, L. (2001). Daytime sleepiness is associated with 3-year incident dementia and cognitive decline in older Japanese-American men. *Journal of the American Geriatrics Society*, 49(12), 1628–1632.
- Folkard, S., & Åkerstedt, T. (1987). Towards a model for the prediction of alertness and/or fatigue on different sleep/wake schedules. *Contemporary Advances in Shiftwork Research*. Krakow: Medical Academy, 231–240.
- Frase, L., Maier, J. G., Zittel, S., Freyer, T., Riemann, D., Normann, C., ... Nissen, C. (2015). Bifrontal anodal transcranial direct current stimulation (tDCS) improves daytime vigilance

- and sleepiness in a patient with organic hypersomnia following reanimation. *Brain Stimulation: Basic, Translational, and Clinical Research in Neuromodulation*, 8(4), 844–846.
- Frase, L., Piosczyk, H., Zittel, S., Jahn, F., Selhausen, P., Krone, L., ... Kuhn, M. (2016). Modulation of total sleep time by transcranial direct current stimulation (tDCS). *Neuropsychopharmacology*, 41(10), 2577.
- Frase, L., Selhausen, P., Krone, L., Tsodor, S., Jahn, F., Feige, B., ... Kuhn, M. (2019). Differential effects of bifrontal tDCS on arousal and sleep duration in insomnia patients and healthy controls. *Brain Stimulation*, 12(3), 674–683.
- Fregni, F., Boggio, P. S., Nitsche, M., Berman, F., Antal, A., Feredoes, E., ... Paulus, W. (2005). Anodal transcranial direct current stimulation of prefrontal cortex enhances working memory. *Experimental Brain Research*, 166(1), 23–30.
- Fregni, F., Boggio, P. S., Santos, M. C., Lima, M., Vieira, A. L., Rigonatti, S. P., ... Pascual-Leone, A. (2006). Noninvasive cortical stimulation with transcranial direct current stimulation in Parkinson's disease. *Movement Disorders*, 21(10), 1693–1702.
- Fuller, P. M., Gooley, J. J., & Saper, C. B. (2006). Neurobiology of the sleep-wake cycle: sleep architecture, circadian regulation, and regulatory feedback. *Journal of Biological Rhythms*, 21(6), 482–493.
- Fumagalli, M., Vergari, M., Pasqualetti, P., Marceglia, S., Mamelì, F., Ferrucci, R., ... Pravettoni, G. (2010). Brain switches utilitarian behavior: does gender make the difference? *PLoS One*, 5(1), e8865.
- Galbiati, A., Abutalebi, J., Iannaccone, S., Borsa, V. M., Musteata, S., Zucconi, M., ... Ferini-Strambi, L. (2016). The effects of Transcranial Direct Current Stimulation (tDCS) on Idiopathic Hypersomnia: a pilot study. *Archives Italiennes de Biologie*, 154(1), 1–5.
- Garbarino, S., Lino, N., Beelke, M., Carli, F. De, & Ferrillo, F. (2001). The contributing role of sleepiness in highway vehicle accidents. *Sleep*, 24(2), 201–206.
- Gaus, S. E., Strecker, R. E., Tate, B. A., Parker, R. A., & Saper, C. B. (2002). Ventrolateral preoptic nucleus contains sleep-active, galaninergic neurons in multiple mammalian species. *Neuroscience*, 115(1), 285–294.
- Gazzaniga, M. S., Eliassen, J. C., Nisenson, L., Wessinger, C. M., Fendrich, R., & Baynes, K. (1996). Collaboration between the hemispheres of a callosotomy patient: Emerging right hemisphere speech and the left hemisphere interpreter. *Brain*, 119(4), 1255–1262.
- Gevens, A., Smith, M. E., McEvoy, L., & Yu, D. (1997). High-resolution EEG mapping of cortical activation related to working memory: effects of task difficulty, type of processing, and practice. *Cerebral Cortex (New York, NY: 1991)*, 7(4), 374–385.
- Goldman, R. I., Stern, J. M., Engel Jr, J., & Cohen, M. S. (2002). Simultaneous EEG and fMRI of the alpha rhythm. *Neuroreport*, 13(18), 2487.
- Gorgoni, M., Bartolacci, C., D'Atri, A., Scarpelli, S., Marzano, C., Moroni, F., ... De Gennaro, L.

- (2019). The spatiotemporal pattern of the human electroencephalogram at sleep onset after a period of prolonged wakefulness. *Frontiers in Neuroscience*, *13*.
- Gorgoni, M., Ferlazzo, F., Ferrara, M., Moroni, F., D'Atri, A., Fanelli, S., ... Rossini, P. M. (2014). Topographic electroencephalogram changes associated with psychomotor vigilance task performance after sleep deprivation. *Sleep Medicine*, *15*(9), 1132–1139.
- Gorgoni, M., Ferrara, M., D'Atri, A., Lauri, G., Scarpelli, S., Truglia, I., & De Gennaro, L. (2015). EEG topography during sleep inertia upon awakening after a period of increased homeostatic sleep pressure. *Sleep Medicine*, *16*(7), 883–890.
- Gray, C. M., König, P., Engel, A. K., & Singer, W. (1989). Oscillatory responses in cat visual cortex exhibit inter-columnar synchronization which reflects global stimulus properties. *Nature*, *338*(6213), 334.
- Grimm, S., Beck, J., Schuepbach, D., Hell, D., Boesiger, P., Birmpohl, F., ... Northoff, G. (2008). Imbalance between left and right dorsolateral prefrontal cortex in major depression is linked to negative emotional judgment: an fMRI study in severe major depressive disorder. *Biological Psychiatry*, *63*(4), 369–376.
- Gruber, R., & Sadeh, A. (2004). Sleep and neurobehavioral functioning in boys with attention-deficit/hyperactivity disorder and no reported breathing problems. *Sleep*, *27*(2), 267–273.
- Gschwind, M., & Seeck, M. (2016). Transcranial direct-current stimulation as treatment in epilepsy. *Expert Review of Neurotherapeutics*, *16*(12), 1427–1441.
- Hanslmayr, S., Sauseng, P., Doppelmayr, M., Schabus, M., & Klimesch, W. (2005). Increasing individual upper alpha power by neurofeedback improves cognitive performance in human subjects. *Applied Psychophysiology and Biofeedback*, *30*(1), 1–10.
- Hattori, Y., Moriwaki, A., & Hori, Y. (1990). Biphasic effects of polarizing current on adenosine-sensitive generation of cyclic AMP in rat cerebral cortex. *Neuroscience Letters*, *116*(3), 320–324.
- Heath, A. C., Kendler, K. S., Eaves, L. J., & Martin, N. G. (1990). Evidence for genetic influences on sleep disturbance and sleep pattern in twins. *Sleep*, *13*(4), 318–335.
- Helton, W. S., Warm, J. S., Tripp, L. D., Matthews, G., Parasuraman, R., & Hancock, P. A. (2010). Cerebral lateralization of vigilance: a function of task difficulty. *Neuropsychologia*, *48*(6), 1683–1688.
- Herrmann, C. S., Rach, S., Neuling, T., & Strüber, D. (2013). Transcranial alternating current stimulation: a review of the underlying mechanisms and modulation of cognitive processes. *Frontiers in Human Neuroscience*, *7*, 279.
- Herscovitch, J., & Broughton, R. (1981). Performance deficits following short-term partial sleep deprivation and subsequent recovery oversleeping. *Canadian Journal of Psychology/Revue Canadienne de Psychologie*, *35*(4), 309.
- Herwig, U., Padberg, F., Unger, J., Spitzer, M., & Schönfeldt-Lecuona, C. (2001). Transcranial

- magnetic stimulation in therapy studies: examination of the reliability of “standard” coil positioning by neuronavigation. *Biological Psychiatry*, 50(1), 58–61.
- Hill, A. T., Fitzgerald, P. B., & Hoy, K. E. (2016). Effects of anodal transcranial direct current stimulation on working memory: a systematic review and meta-analysis of findings from healthy and neuropsychiatric populations. *Brain Stimulation*, 9(2), 197–208.
- Hobson, J. A. (2009). REM sleep and dreaming: towards a theory of protoconsciousness. *Nature Reviews Neuroscience*, 10(11), 803.
- Hobson, J. A., Pace-Schott, E. F., & Stickgold, R. (2000). Dreaming and the brain: toward a cognitive neuroscience of conscious states. *Behavioral and Brain Sciences*, 23(6), 793–842.
- Hoddes, E. (1971). The history and use of the Stanford Sleepiness Scale. *Psychophysiology*, 9, 150.
- Hoddes, E., Zarcone, V., Smythe, H., Phillips, R., & Dement, W. C. (1973). Quantification of sleepiness: a new approach. *Psychophysiology*, 10(4), 431–436.
- Hori, T. (1982). Electrodermal and electrooculographic activity in a hypnagogic state. *Psychophysiology*, 19(6), 668–672.
- Hori, T., Hayashi, M., & Morikawa, T. (1994). Topographical EEG changes and the hypnagogic experience.
- Horvath, J. C., Forte, J. D., & Carter, O. (2015). Evidence that transcranial direct current stimulation (tDCS) generates little-to-no reliable neurophysiologic effect beyond MEP amplitude modulation in healthy human subjects: a systematic review. *Neuropsychologia*, 66, 213–236.
- Hotermans, C., Peigneux, P., De Noordhout, A. M., Moonen, G., & Maquet, P. (2008). Repetitive transcranial magnetic stimulation over the primary motor cortex disrupts early boost but not delayed gains in performance in motor sequence learning. *European Journal of Neuroscience*, 28(6), 1216–1221.
- Howard, M. W., Rizzuto, D. S., Caplan, J. B., Madsen, J. R., Lisman, J., Aschenbrenner-Scheibe, R., ... Kahana, M. J. (2003). Gamma oscillations correlate with working memory load in humans. *Cerebral Cortex*, 13(12), 1369–1374.
- Huang, Y.-Z., Edwards, M. J., Rounis, E., Bhatia, K. P., & Rothwell, J. C. (2005). Theta burst stimulation of the human motor cortex. *Neuron*, 45(2), 201–206.
- Huber, R., Ghilardi, M. F., Massimini, M., & Tononi, G. (2004). Local sleep and learning. *Nature*, 430(6995), 78.
- Hung, C.-S., Sarasso, S., Ferrarelli, F., Riedner, B., Ghilardi, M. F., Cirelli, C., & Tononi, G. (2013). Local experience-dependent changes in the wake EEG after prolonged wakefulness. *Sleep*, 36(1), 59–72.
- Islam, N., Aftabuddin, M., Moriwaki, A., Hattori, Y., & Hori, Y. (1995). Increase in the calcium level following anodal polarization in the rat brain. *Brain Research*, 684(2), 206–208.
- Isomura, Y., Sirota, A., Özen, S., Montgomery, S., Mizuseki, K., Henze, D. A., & Buzsáki, G.

- (2006). Integration and segregation of activity in entorhinal-hippocampal subregions by neocortical slow oscillations. *Neuron*, 52(5), 871–882.
- Jacobs, B. L., & Fornal, C. A. (1991). Activity of brain serotonergic neurons in the behaving animal. *Pharmacological Reviews*, 43(4), 563–578.
- Jakobson, A. J., Fitzgerald, P. B., & Conduit, R. (2012). Induction of visual dream reports after transcranial direct current stimulation (tDCs) during Stage 2 sleep. *Journal of Sleep Research*, 21(4), 369–379.
- Janson, C., Gislason, T., De Backer, W., Plaschke, P., Björnsson, E., Hetta, J., ... Boman, G. (1995). Daytime sleepiness, snoring and gastrooesophageal reflux amongst young adults in three European countries. *Journal of Internal Medicine*, 237(3), 277–285.
- Jensen, O., & Colgin, L. L. (2007). Cross-frequency coupling between neuronal oscillations. *Trends in Cognitive Sciences*, 11(7), 267–269.
- Johns, M., & Hocking, B. (1997). Daytime sleepiness and sleep habits of Australian workers. *Sleep*, 20(10), 844–847.
- Johns, M. W. (1991). A new method for measuring daytime sleepiness: the Epworth sleepiness scale. *Sleep*, 14(6), 540–545.
- Johns, M. W. (1992). Reliability and factor analysis of the Epworth Sleepiness Scale. *Sleep*, 15(4), 376–381.
- Joliot, M., Ribary, U., & Llinas, R. (1994). Human oscillatory brain activity near 40 Hz coexists with cognitive temporal binding. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 91(24), 11748–11751.
- Joundi, R. A., Jenkinson, N., Brittain, J.-S., Aziz, T. Z., & Brown, P. (2012). Driving oscillatory activity in the human cortex enhances motor performance. *Current Biology*, 22(5), 403–407.
- Kanai, R., Chaieb, L., Antal, A., Walsh, V., & Paulus, W. (2008). Frequency-dependent electrical stimulation of the visual cortex. *Current Biology*, 18(23), 1839–1843.
- Kanamori, N. (1993). Rhythmic slow waves of lateral geniculate nucleus in the cat: relation to vigilance. *International Journal of Neuroscience*, 68(1–2), 117–122.
- Kaneita, Y., Ohida, T., Uchiyama, M., Takemura, S., Kawahara, K., Yokoyama, E., ... Yagi, Y. (2005). Excessive daytime sleepiness among the Japanese general population. *Journal of Epidemiology*, 15(1), 1–8.
- Karim, A. A., Schneider, M., Lotze, M., Veit, R., Sauseng, P., Braun, C., & Birbaumer, N. (2009). The truth about lying: inhibition of the anterior prefrontal cortex improves deceptive behavior. *Cerebral Cortex*, 20(1), 205–213.
- Kasten, F. H., Dowsett, J., & Herrmann, C. S. (2016). Sustained aftereffect of α -tACS lasts up to 70 min after stimulation. *Frontiers in Human Neuroscience*, 10, 245.
- Kecklund, G., & Åkerstedt, T. (1993). Sleepiness in long distance truck driving: an ambulatory EEG study of night driving. *Ergonomics*, 36(9), 1007–1017.

- Keeser, D., Meindl, T., Bor, J., Palm, U., Pogarell, O., Mulert, C., ... Padberg, F. (2011). Prefrontal transcranial direct current stimulation changes connectivity of resting-state networks during fMRI. *Journal of Neuroscience*, *31*(43), 15284–15293.
- Khitrov, M. Y., Laxminarayan, S., Thorsley, D., Ramakrishnan, S., Rajaraman, S., Wesensten, N. J., & Reifman, J. (2014). PC-PVT: a platform for psychomotor vigilance task testing, analysis, and prediction. *Behavior Research Methods*, *46*(1), 140–147.
- Kirimoto, H., Ogata, K., Onishi, H., Oyama, M., Goto, Y., & Tobimatsu, S. (2011). Transcranial direct current stimulation over the motor association cortex induces plastic changes in ipsilateral primary motor and somatosensory cortices. *Clinical Neurophysiology*, *122*(4), 777–783.
- Kirov, R., Weiss, C., Siebner, H. R., Born, J., & Marshall, L. (2009). Slow oscillation electrical brain stimulation during waking promotes EEG theta activity and memory encoding. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *106*(36), 15460–15465.
- Kirschen, M. P., Davis-Ratner, M. S., Jerde, T. E., Schraedley-Desmond, P., & Desmond, J. E. (2006). Enhancement of phonological memory following transcranial magnetic stimulation (TMS). *Behavioural Neurology*, *17*(3–4), 187–194.
- Knoch, D., Pascual-Leone, A., Meyer, K., Treyer, V., & Fehr, E. (2006). Diminishing reciprocal fairness by disrupting the right prefrontal cortex. *Science*, *314*(5800), 829–832.
- Knutson, K. L., Rathouz, P. J., Yan, L. L., Liu, K., & Lauderdale, D. S. (2006). Stability of the Pittsburgh Sleep Quality Index and the Epworth Sleepiness Questionnaires over 1 year in early middle-aged adults: the CARDIA study. *Sleep*, *29*(11), 1503–1506.
- Ko, E. M., Estabrooke, I. V., McCarthy, M., & Scammell, T. E. (2003). Wake-related activity of tuberomammillary neurons in rats. *Brain Research*, *992*(2), 220–226.
- Krone, L., Frase, L., Piosczyk, H., Selhausen, P., Zittel, S., Jahn, F., ... Klöppel, S. (2017). Top-down control of arousal and sleep: Fundamentals and clinical implications. *Sleep Medicine Reviews*, *31*, 17–24.
- Krueger, J. M., & Obal JR, F. (1993). A neuronal group theory of sleep function. *Journal of Sleep Research*, *2*(2), 63–69.
- Kuo, H.-I., Paulus, W., Batsikadze, G., Jamil, A., Kuo, M.-F., & Nitsche, M. A. (2016). Chronic enhancement of serotonin facilitates excitatory transcranial direct current stimulation-induced neuroplasticity. *Neuropsychopharmacology*, *41*(5), 1223.
- Kwon, Y. H., Ko, M.-H., Ahn, S. H., Kim, Y.-H., Song, J. C., Lee, C.-H., ... Jang, S. H. (2008). Primary motor cortex activation by transcranial direct current stimulation in the human brain. *Neuroscience Letters*, *435*(1), 56–59.
- Ladenbauer, J., Ladenbauer, J., Külzow, N., de Boer, R., Avramova, E., Grittner, U., & Flöel, A. (2017). Promoting sleep oscillations and their functional coupling by transcranial stimulation enhances memory consolidation in mild cognitive impairment. *Journal of Neuroscience*,

- 37(30), 7111–7124.
- Lakatos, P., Shah, A. S., Knuth, K. H., Ulbert, I., Karmos, G., & Schroeder, C. E. (2005). An oscillatory hierarchy controlling neuronal excitability and stimulus processing in the auditory cortex. *Journal of Neurophysiology*, *94*(3), 1904–1911.
- Landolt, H.-P., & Borbély, A. A. (2001). Age-dependent changes in sleep EEG topography. *Clinical Neurophysiology*, *112*(2), 369–377.
- Lang, N., Siebner, H. R., Ward, N. S., Lee, L., Nitsche, M. A., Paulus, W., ... Frackowiak, R. S. (2005). How does transcranial DC stimulation of the primary motor cortex alter regional neuronal activity in the human brain? *European Journal of Neuroscience*, *22*(2), 495–504.
- Lauro, L. J. R., Rosanova, M., Mattavelli, G., Convento, S., Pisoni, A., Opitz, A., ... Vallar, G. (2014). TDCS increases cortical excitability: direct evidence from TMS–EEG. *Cortex*, *58*, 99–111.
- Lavie, P. (1979). Ultradian rhythms in alertness—a pupillometric study. *Biological Psychology*, *9*(1), 49–62.
- Lee, K. H., Blaha, C. D., Harris, B. T., Cooper, S., Hitti, F. L., Leiter, J. C., ... Kim, U. (2006). Dopamine efflux in the rat striatum evoked by electrical stimulation of the subthalamic nucleus: potential mechanism of action in Parkinson’s disease. *European Journal of Neuroscience*, *23*(4), 1005–1014.
- Lee, M. G., Hassani, O. K., Alonso, A., & Jones, B. E. (2005). Cholinergic basal forebrain neurons burst with theta during waking and paradoxical sleep. *Journal of Neuroscience*, *25*(17), 4365–4369.
- Lefaucheur, J. P., Antal, A., Ayache, S. S., Benninger, D. H., Brunelin, J., Cogiamanian, F., ... Paulus, W. (2017). Evidence-based guidelines on the therapeutic use of transcranial direct current stimulation (tDCS). *Clinical Neurophysiology*, *128*(1), 56–92. <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2016.10.087>
- Levine, B., Roehrs, T., Zorick, F., & Roth, T. (1988). Daytime sleepiness in young adults. *Sleep*, *11*(1), 39–46.
- Li, Y., Zhang, X., Winkelman, J. W., Redline, S., Hu, F. B., Stampfer, M., ... Gao, X. (2014). Association between insomnia symptoms and mortality: a prospective study of US men. *Circulation*, *129*(7), 737–746.
- Liberson, W. T., & Liberson, C. W. (1966). EEG records, reaction times, eye movements, respiration, and mental content during drowsiness. In *Recent advances in biological psychiatry* (pp. 295–302). Springer.
- Liebetanz, D., Nitsche, M. A., Tergau, F., & Paulus, W. (2002). Pharmacological approach to the mechanisms of transcranial DC stimulation-induced after-effects of human motor cortex excitability. *Brain*, *125*(10), 2238–2247.
- Liljenberg, B., Almqvist, M., Hetta, J., Roos, B. E., & Agren, H. (1988). The prevalence of

- insomnia: the importance of operationally defined criteria. *Annals of Clinical Research*, 20(6), 393–398.
- Linkenkaer-Hansen, K., Monto, S., Rytälä, H., Suominen, K., Isometsä, E., & Kähkönen, S. (2005). Breakdown of long-range temporal correlations in theta oscillations in patients with major depressive disorder. *Journal of Neuroscience*, 25(44), 10131–10137.
- Lippold, O. C. J., & Redfearn, J. W. T. (1964). Mental changes resulting from the passage of small direct currents through the human brain. *The British Journal of Psychiatry*, 110(469), 768–772.
- Littner, M. R., Kushida, C., Wise, M., G. Davila, D., Morgenthaler, T., Lee-Chiong, T., ... Berry, R. B. (2005). Practice parameters for clinical use of the multiple sleep latency test and the maintenance of wakefulness test. *Sleep*, 28(1), 113–121.
- Llinas, R., & Ribary, U. (1993). Coherent 40-Hz oscillation characterizes dream state in humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 90(5), 2078–2081.
- Löffler, B. S., Stecher, H. I., Fudickar, S., de Sordi, D., Otto-Sobotka, F., Hein, A., & Herrmann, C. S. (2018). Counteracting the slowdown of reaction times in a vigilance experiment with 40-Hz transcranial alternating current stimulation. *IEEE Transactions on Neural Systems and Rehabilitation Engineering*, 26(10), 2053–2061.
- Loomis, A. L., Harvey, E. N., & Hobart, G. A. (1937). Cerebral states during sleep, as studied by human brain potentials. *Journal of Experimental Psychology*, 21(2), 127.
- Lu, J., Greco, M. A., Shiromani, P., & Saper, C. B. (2000). Effect of lesions of the ventrolateral preoptic nucleus on NREM and REM sleep. *Journal of Neuroscience*, 20(10), 3830–3842.
- Luber, B., Stanford, A. D., Bulow, P., Nguyen, T., Rakitin, B. C., Habeck, C., ... Lisanby, S. H. (2008). Remediation of sleep-deprivation-induced working memory impairment with fMRI-guided transcranial magnetic stimulation. *Cerebral Cortex*, 18(9), 2077–2085.
- Maeoka, H., Matsuo, A., Hiyamizu, M., Morioka, S., & Ando, H. (2012). Influence of transcranial direct current stimulation of the dorsolateral prefrontal cortex on pain related emotions: a study using electroencephalographic power spectrum analysis. *Neuroscience Letters*, 512(1), 12–16.
- Magnin, M., Rey, M., Bastuji, H., Guillemant, P., Mauguière, F., & Garcia-Larrea, L. (2010). Thalamic deactivation at sleep onset precedes that of the cerebral cortex in humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(8), 3829–3833.
- Malenka, R. C., & Nicoll, R. A. (1999). Long-term potentiation--a decade of progress? *Science*, 285(5435), 1870–1874.
- Mancini, M., Brignani, D., Conforto, S., Mauri, P., Miniussi, C., & Pellicciari, M. C. (2016). Assessing cortical synchronization during transcranial direct current stimulation: A graph-theoretical analysis. *NeuroImage*, 140, 57–65.
- Mancuso, L. E., Ilieva, I. P., Hamilton, R. H., & Farah, M. J. (2016). Does transcranial direct

- current stimulation improve healthy working memory?: a meta-analytic review. *Journal of Cognitive Neuroscience*, 28(8), 1063–1089.
- Mander, B. A., Santhanam, S., Saletin, J. M., & Walker, M. P. (2011). Wake deterioration and sleep restoration of human learning. *Current Biology*, 21(5), R183–R184.
- Maquet, P., Péters, J.-M., Aerts, J., Delfiore, G., Degueldre, C., Luxen, A., & Franck, G. (1996). Functional neuroanatomy of human rapid-eye-movement sleep and dreaming. *Nature*, 383(6596), 163.
- Marshall, L., & Born, J. (2007). The contribution of sleep to hippocampus-dependent memory consolidation. *Trends in Cognitive Sciences*, 11(10), 442–450.
- Marshall, L., Helgadóttir, H., Mölle, M., & Born, J. (2006). Boosting slow oscillations during sleep potentiates memory. *Nature*, 444(7119), 610.
- Marshall, L., Kirov, R., Brade, J., Mölle, M., & Born, J. (2011). Transcranial electrical currents to probe EEG brain rhythms and memory consolidation during sleep in humans. *PloS One*, 6(2), e16905.
- Marshall, L., Mölle, M., Hallschmid, M., & Born, J. (2004). Transcranial direct current stimulation during sleep improves declarative memory. *Journal of Neuroscience*, 24(44), 9985–9992.
- Marshall, L., Mölle, M., Siebner, H. R., & Born, J. (2005). Bifrontal transcranial direct current stimulation slows reaction time in a working memory task. *BMC Neuroscience*, 6(1), 23.
- Marzano, C., Ferrara, M., Curcio, G., & Gennaro, L. De. (2010). The effects of sleep deprivation in humans: topographical electroencephalogram changes in non-rapid eye movement (NREM) sleep versus REM sleep. *Journal of Sleep Research*, 19(2), 260–268.
- Marzano, C., Moroni, F., Gorgoni, M., Nobili, L., Ferrara, M., & De Gennaro, L. (2013). How we fall asleep: regional and temporal differences in electroencephalographic synchronization at sleep onset. *Sleep Medicine*, 14(11), 1112–1122.
- Massimini, M., Huber, R., Ferrarelli, F., Hill, S., & Tononi, G. (2004). The sleep slow oscillation as a traveling wave. *Journal of Neuroscience*, 24(31), 6862–6870.
- Mayes, A., Montaldi, D., & Migo, E. (2007). Associative memory and the medial temporal lobes. *Trends in Cognitive Sciences*, 11(3), 126–135.
- McCarley, R. W., & Hobson, J. A. (1975). Neuronal excitability modulation over the sleep cycle: a structural and mathematical model. *Science*, 189(4196), 58–60.
- McGinty, D. J., & Serman, M. B. (1968). Sleep suppression after basal forebrain lesions in the cat. *Science*, 160(3833), 1253–1255.
- McIntire, L. K., McKinley, R. A., Goodyear, C., & Nelson, J. (2014). A comparison of the effects of transcranial direct current stimulation and caffeine on vigilance and cognitive performance during extended wakefulness. *Brain Stimulation*, 7(4), 499–507.
- McIntire, L. K., McKinley, R. A., Nelson, J. M., & Goodyear, C. (2017). Transcranial direct current stimulation versus caffeine as a fatigue countermeasure. *Brain Stimulation*, 10(6),

- 1070–1078.
- McNair, D. M., Lorr, M., & Droppleman, L. F. (1971). *Manual for the profile of mood states* San Diego, CA: *Educational and Industrial Testing Services*.
- Mengarelli, F., Spoglianti, S., Avenanti, A., & Di Pellegrino, G. (2013). Cathodal tDCS over the left prefrontal cortex diminishes choice-induced preference change. *Cerebral Cortex*, *25*(5), 1219–1227.
- Merzagora, A. C., Foffani, G., Panyavin, I., Mordillo-Mateos, L., Aguilar, J., Onaral, B., & Oliviero, A. (2010). Prefrontal hemodynamic changes produced by anodal direct current stimulation. *Neuroimage*, *49*(3), 2304–2310.
- Miranda, P. C., Lomarev, M., & Hallett, M. (2006). Modeling the current distribution during transcranial direct current stimulation. *Clinical Neurophysiology*, *117*(7), 1623–1629.
- Mitler, M. M., Gujavarty, K. S., & Browman, C. P. (1982). Maintenance of wakefulness test: a polysomnographic technique for evaluating treatment efficacy in patients with excessive somnolence. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, *53*(6), 658–661.
- Moffa, A. H., Brunoni, A. R., Nikolin, S., & Loo, C. K. (2018). Transcranial direct current stimulation in psychiatric disorders: a comprehensive review. *Psychiatric Clinics*, *41*(3), 447–463.
- Moliadze, V., Antal, A., & Paulus, W. (2010). Electrode-distance dependent after-effects of transcranial direct and random noise stimulation with extracephalic reference electrodes. *Clinical Neurophysiology*, *121*(12), 2165–2171.
- Mölle, M., Marshall, L., Fehm, H. L., & Born, J. (2002). EEG theta synchronization conjoined with alpha desynchronization indicate intentional encoding. *European Journal of Neuroscience*, *15*(5), 923–928.
- Monk, T. H. (1987). Subjective ratings of sleepiness—the underlying circadian mechanisms. *Sleep*, *10*(4), 343–353.
- Monk, T. H. (1989). A visual analogue scale technique to measure global vigor and affect. *Psychiatry Research*, *27*(1), 89–99.
- Monte-Silva, K., Kuo, M.-F., Hessenthaler, S., Fresnoza, S., Liebetanz, D., Paulus, W., & Nitsche, M. A. (2013). Induction of late LTP-like plasticity in the human motor cortex by repeated non-invasive brain stimulation. *Brain Stimulation*, *6*(3), 424–432.
- Moriwaki, A. (1991). Polarizing currents increase noradrenaline-elicited accumulation of cyclic AMP in rat cerebral cortex. *Brain Research*, *544*(2), 248–252.
- Mottaghy, F. M., Sparing, R., & Töpper, R. (2006). Enhancing picture naming with transcranial magnetic stimulation. *Behavioural Neurology*, *17*(3, 4), 177–186.
- Munz, M. T., Prehn-Kristensen, A., Thielking, F., Mölle, M., Göder, R., & Baving, L. (2015). Slow oscillating transcranial direct current stimulation during non-rapid eye movement sleep improves behavioral inhibition in attention-deficit/hyperactivity disorder. *Frontiers in*

Cellular Neuroscience, 9, 307.

- Murthy, V. N., & Fetz, E. E. (1992). Coherent 25-to 35-Hz oscillations in the sensorimotor cortex of awake behaving monkeys. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 89(12), 5670.
- Naros, G., Geyer, M., Koch, S., Mayr, L., Ellinger, T., Grimm, F., & Gharabaghi, A. (2016). Enhanced motor learning with bilateral transcranial direct current stimulation: impact of polarity or current flow direction? *Clinical Neurophysiology*, 127(4), 2119–2126.
- Nelson, J. T., McKinley, R. A., Golob, E. J., Warm, J. S., & Parasuraman, R. (2014). Enhancing vigilance in operators with prefrontal cortex transcranial direct current stimulation (tDCS). *Neuroimage*, 85, 909–917.
- Neuling, T., Rach, S., Wagner, S., Wolters, C. H., & Herrmann, C. S. (2012). Good vibrations: oscillatory phase shapes perception. *Neuroimage*, 63(2), 771–778.
- Newman, J., & Broughton, R. (1991). Pupillometric assessment of excessive daytime sleepiness in narcolepsy-cataplexy. *Sleep*, 14(2), 121–129.
- Nias, D. K. B., & Shapiro, M. B. (1974). The effects of small electrical currents upon depressive symptoms. *The British Journal of Psychiatry*, 125(587), 414–415.
- Niedermeyer, E. (2005). The normal EEG of the waking adult. *Electroencephalography: Basic Principles, Clinical Applications, and Related Fields*, 167, 155–164.
- Nir, Y., Andrillon, T., Marmelshtein, A., Suthana, N., Cirelli, C., Tononi, G., & Fried, I. (2017). Selective neuronal lapses precede human cognitive lapses following sleep deprivation. *Nature Medicine*, 23(12), 1474.
- Nir, Y., Staba, R. J., Andrillon, T., Vyazovskiy, V. V., Cirelli, C., Fried, I., & Tononi, G. (2011). Regional slow waves and spindles in human sleep. *Neuron*, 70(1), 153–169.
- Nitsche, M. A., Doemkes, S., Karakose, T., Antal, A., Liebetanz, D., Lang, N., ... Paulus, W. (2007). Shaping the effects of transcranial direct current stimulation of the human motor cortex. *Journal of Neurophysiology*, 97(4), 3109–3117.
- Nitsche, M. A., Grundey, J., Liebetanz, D., Lang, N., Tergau, F., & Paulus, W. (2004). Catecholaminergic consolidation of motor cortical neuroplasticity in humans. *Cerebral Cortex*, 14(11), 1240–1245.
- Nitsche, M. A., Lampe, C., Antal, A., Liebetanz, D., Lang, N., Tergau, F., & Paulus, W. (2006). Dopaminergic modulation of long-lasting direct current-induced cortical excitability changes in the human motor cortex. *European Journal of Neuroscience*, 23(6), 1651–1657.
- Nitsche, M. A., & Paulus, W. (2000). Excitability changes induced in the human motor cortex by weak transcranial direct current stimulation. *The Journal of Physiology*, 527(3), 633–639.
- Nitsche, M. A., & Paulus, W. (2001). Sustained excitability elevations induced by transcranial DC motor cortex stimulation in humans. *Neurology*, 57(10), 1899–1901.
- Nitsche, M. A., Seeber, A., Frommann, K., Klein, C. C., Rochford, C., Nitsche, M. S., ... Antal, A.

- (2005). Modulating parameters of excitability during and after transcranial direct current stimulation of the human motor cortex. *The Journal of Physiology*, *568*(1), 291–303.
- Nobili, L., De Gennaro, L., Proserpio, P., Moroni, F., Sarasso, S., Pigorini, A., ... Ferrara, M. (2012). Local aspects of sleep: observations from intracerebral recordings in humans. In *Progress in brain research* (Vol. 199, pp. 219–232). Elsevier.
- O’Connell, N. E., Marston, L., Spencer, S., DeSouza, L. H., & Wand, B. M. (2018). Non-invasive brain stimulation techniques for chronic pain. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, (3).
- Ogilvie, R. D. (2001). The process of falling asleep. *Sleep Medicine Reviews*, *5*(3), 247–270. <https://doi.org/10.1053/smr.2001.0145>
- Ogilvie, R. D., Wilkinson, R. T., & Allison, S. (1989). The detection of sleep onset: Behavioral, physiological, and subjective convergence. *Sleep*, *12*(5), 458–474. <https://doi.org/10.1093/sleep/12.5.458>
- Ohayon, M. M. (2012). Determining the level of sleepiness in the American population and its correlates. *Journal of Psychiatric Research*, *46*(4), 422–427.
- Opitz, A., Paulus, W., Will, S., Antunes, A., & Thielscher, A. (2015). Determinants of the electric field during transcranial direct current stimulation. *Neuroimage*, *109*, 140–150.
- Ozen, S., Sirota, A., Belluscio, M. A., Anastassiou, C. A., Stark, E., Koch, C., & Buzsáki, G. (2010). Transcranial electric stimulation entrains cortical neuronal populations in rats. *Journal of Neuroscience*, *30*(34), 11476–11485.
- Pallesen, S., Nordhus, I. H., Omvik, S., Sivertsen, B., Tell, G. S., & Bjorvatn, B. (2007). Prevalence and risk factors of subjective sleepiness in the general adult population. *Sleep*, *30*(5), 619–624.
- Papadelis, C., Kourtidou-Papadeli, C., Bamidis, P. D., Chouvarda, I., Koufogiannis, D., Bekiaris, E., & Maglaveras, N. (2006). Indicators of sleepiness in an ambulatory EEG study of night driving. In *2006 International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society* (pp. 6201–6204). IEEE.
- Parasuraman, R., & Rizzo, M. (2008). *Neuroergonomics: The brain at work* (Vol. 3). Oxford University Press.
- Parish, L. M., Worrell, G. A., Cranstoun, S. D., Stead, S. M., Pennell, P., & Litt, B. (2004). Long-range temporal correlations in epileptogenic and non-epileptogenic human hippocampus. *Neuroscience*, *125*(4), 1069–1076.
- Paßmann, S., Külzow, N., Ladenbauer, J., Antonenko, D., Grittner, U., Tamm, S., & Flöel, A. (2016). Boosting slow oscillatory activity using tDCS during early nocturnal slow wave sleep does not improve memory consolidation in healthy older adults. *Brain Stimulation*, *9*(5), 730–739.
- Paulus, W. (2011). Transcranial electrical stimulation (tES–tDCS; tRNS, tACS) methods. *Neuropsychological Rehabilitation*, *21*(5), 602–617.

- Pellicciari, M. C., Brignani, D., & Miniussi, C. (2013). Excitability modulation of the motor system induced by transcranial direct current stimulation: a multimodal approach. *Neuroimage*, *83*, 569–580.
- Pellicciari, M. C., & Miniussi, C. (2018). Transcranial Direct Current Stimulation in Neurodegenerative Disorders. *The Journal of ECT*, *34*(3), 193–202.
- Pfurtscheller, G., & Neuper, C. (1992). Simultaneous EEG 10 Hz desynchronization and 40 Hz synchronization during finger movements. *Neuroreport*, *3*(12), 1057–1060.
- Philip, P., Chaufton, C., Orriols, L., Lagarde, E., Amoros, E., Laumon, B., ... Sagaspe, P. (2014). Complaints of poor sleep and risk of traffic accidents: a population-based case-control study. *PloS One*, *9*(12), e114102.
- Plihal, W., & Born, J. (1997). Effects of early and late nocturnal sleep on declarative and procedural memory. *Journal of Cognitive Neuroscience*, *9*(4), 534–547.
- Pogosyan, A., Gaynor, L. D., Eusebio, A., & Brown, P. (2009). Boosting cortical activity at beta-band frequencies slows movement in humans. *Current Biology*, *19*(19), 1637–1641.
- Polanía, R., Nitsche, M. A., & Paulus, W. (2011). Modulating functional connectivity patterns and topological functional organization of the human brain with transcranial direct current stimulation. *Human Brain Mapping*, *32*(8), 1236–1249.
- Porkka-Heiskanen, T., Strecker, R. E., Thakkar, M., Bjørkum, A. A., Greene, R. W., & McCarley, R. W. (1997). Adenosine: a mediator of the sleep-inducing effects of prolonged wakefulness. *Science*, *276*(5316), 1265–1268.
- Prehn-Kristensen, A., Göder, R., Fischer, J., Wilhelm, I., Seeck-Hirschner, M., Aldenhoff, J., & Baving, L. (2011). Reduced sleep-associated consolidation of declarative memory in attention-deficit/hyperactivity disorder. *Sleep Medicine*, *12*(7), 672–679.
- Priori, A. (2003). Brain polarization in humans: a reappraisal of an old tool for prolonged non-invasive modulation of brain excitability. *Clinical Neurophysiology*, *114*(4), 589–595.
- Priori, A., Berardelli, A., Rona, S., Accornero, N., & Manfredi, M. (1998). Polarization of the human motor cortex through the scalp. *Neuroreport*, *9*(10), 2257–2260.
- Purpura, D. P., & McMurtry, J. G. (1965). Intracellular activities and evoked potential changes during polarization of motor cortex. *Journal of Neurophysiology*, *28*(1), 166–185.
- Quartarone, A., Morgante, F., Bagnato, S., Rizzo, V., Sant'Angelo, A., Aiello, E., ... Girlanda, P. (2004). Long lasting effects of transcranial direct current stimulation on motor imagery. *Neuroreport*, *15*(8), 1287–1291.
- Ranzijn, R., & Lack, L. (1997). The pupillary light reflex cannot be used to measure sleepiness. *Psychophysiology*, *34*(1), 17–22.
- Rasmussen, K., Morilak, D. A., & Jacobs, B. L. (1986). Single unit activity of locus coeruleus neurons in the freely moving cat: I. During naturalistic behaviors and in response to simple and complex stimuli. *Brain Research*, *371*(2), 324–334.

- Reato, D., Gasca, F., Datta, A., Bikson, M., Marshall, L., & Parra, L. C. (2013). Transcranial electrical stimulation accelerates human sleep homeostasis. *PLoS Computational Biology*, *9*(2), e1002898.
- Rechtshaffen, A., & Kales, A. (1968). A manual of standard terminology: techniques and scoring system for sleep stages of human subjects. UCLA Brain Information Service. *Brain Research Institute, Los Angeles*.
- Redline, S., & Foody, J. (2011). Sleep disturbances: time to join the top 10 potentially modifiable cardiovascular risk factors? *Am Heart Assoc*.
- Reifman, J., Kumar, K., Khitrov, M. Y., Liu, J., & Ramakrishnan, S. (2018). PC-PVT 2.0: An updated platform for psychomotor vigilance task testing, analysis, prediction, and visualization. *Journal of Neuroscience Methods*, *304*, 39–45.
- Reis, J., Fischer, J. T., Prichard, G., Weiller, C., Cohen, L. G., & Fritsch, B. (2013). Time-but not sleep-dependent consolidation of tDCS-enhanced visuomotor skills. *Cerebral Cortex*, *25*(1), 109–117.
- Reis, J., Schambra, H. M., Cohen, L. G., Buch, E. R., Fritsch, B., Zarahn, E., ... Krakauer, J. W. (2009). Noninvasive cortical stimulation enhances motor skill acquisition over multiple days through an effect on consolidation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *106*(5), 1590–1595.
- Rey, M., Bastuji, H., Garcia-Larrea, L., Guillemant, P., Mauguière, F., & Magnin, M. (2007). Human thalamic and cortical activities assessed by dimension of activation and spectral edge frequency during sleep wake cycles. *Sleep*, *30*(7), 907–912.
- Richardson, G. S., Carskadon, M. A., Orav, E. J., & Dement, W. C. (1982). Circadian variations of sleep tendency in elderly and young adult subjects. *Sleep: Journal of Sleep Research & Sleep Medicine*.
- Riedner, B. A., Vyazovskiy, V. V., Huber, R., Massimini, M., Esser, S., Murphy, M., & Tononi, G. (2007). Sleep homeostasis and cortical synchronization: III. A high-density EEG study of sleep slow waves in humans. *Sleep*, *30*(12), 1643–1657.
- Rigonatti, S. P., Boggio, P. S., Myczkowski, M. L., Otta, E., Fiquer, J. T., Ribeiro, R. B., ... Fregni, F. (2008). Transcranial direct stimulation and fluoxetine for the treatment of depression. *European Psychiatry*, *23*(1), 74–76.
- Ringli, M., Souissi, S., Kurth, S., Brandeis, D., Jenni, O. G., & Huber, R. (2013). Topography of sleep slow wave activity in children with attention-deficit/hyperactivity disorder. *Cortex*, *49*(1), 340–347.
- Rose, M., & Büchel, C. (2005). Neural coupling binds visual tokens to moving stimuli. *Journal of Neuroscience*, *25*(44), 10101–10104.
- Rosenberg, R. P. (2006). Sleep maintenance insomnia: strengths and weaknesses of current pharmacologic therapies. *Annals of Clinical Psychiatry*, *18*(1), 49–56.

- Rosenthal, L., Roehrs, T. A., & Roth, T. (1993). The sleep-wake activity inventory: a self-report measure of daytime sleepiness. *Biological Psychiatry*, *34*(11), 810–820.
- Ruffini, G., Fox, M. D., Ripolles, O., Miranda, P. C., & Pascual-Leone, A. (2014). Optimization of multifocal transcranial current stimulation for weighted cortical pattern targeting from realistic modeling of electric fields. *Neuroimage*, *89*, 216–225.
- Saebipour, M. R., Joghataei, M. T., Yoonessi, A., Sadeghniaat Haghighi, K., Khalighinejad, N., & Khademi, S. (2015). Slow oscillating transcranial direct current stimulation during sleep has a sleep-stabilizing effect in chronic insomnia: a pilot study. *Journal of Sleep Research*, *24*(5), 518–525.
- Sangal, R. B., Thomas, L., & Mitler, M. M. (1992). Disorders of excessive sleepiness: treatment improves ability to stay awake but does not reduce sleepiness. *Chest*, *102*(3), 699–703.
- Santarnecchi, E., Polizzotto, N. R., Godone, M., Giovannelli, F., Feurra, M., Matzen, L., ... Rossi, S. (2013). Frequency-dependent enhancement of fluid intelligence induced by transcranial oscillatory potentials. *Current Biology*, *23*(15), 1449–1453.
- Saper, C. B., Chou, T. C., & Scammell, T. E. (2001). The sleep switch: hypothalamic control of sleep and wakefulness. *Trends in Neurosciences*, *24*(12), 726–731.
- Sarasso, S., Proserpio, P., Pigorini, A., Moroni, F., Ferrara, M., De Gennaro, L., ... Nobili, L. (2014). Hippocampal sleep spindles preceding neocortical sleep onset in humans. *Neuroimage*, *86*, 425–432.
- Sarnthein, J., Petsche, H., Rappelsberger, P., Shaw, G. L., & Von Stein, A. (1998). Synchronization between prefrontal and posterior association cortex during human working memory. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *95*(12), 7092–7096.
- Sateia, M. J. (2014). International classification of sleep disorders. *Chest*, *146*(5), 1387–1394.
- Saturnino, G., Antunes, A., Stelzer, J., & Thielscher, A. (2015). SimNIBS: a versatile toolbox for simulating fields generated by transcranial brain stimulation. In *21st Annual Meeting of the Organization for Human Brain Mapping (OHBM 2015)*.
- Sauseng, P., Griesmayr, B., Freunberger, R., & Klimesch, W. (2010). Control mechanisms in working memory: a possible function of EEG theta oscillations. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, *34*(7), 1015–1022.
- Schjetnan, A., Faraji, J., Metz, G. A., Tatsuno, M., & Luczak, A. (2013). Transcranial direct current stimulation in stroke rehabilitation: a review of recent advancements. *Stroke Research and Treatment*, *2013*.
- Schomer, D. L., & Da Silva, F. L. (2012). *Niedermeyer's electroencephalography: basic principles, clinical applications, and related fields*. Lippincott Williams & Wilkins.
- Schutter, D. J. L. G., & Hortensius, R. (2011). Brain oscillations and frequency-dependent modulation of cortical excitability. *Brain Stimulation*, *4*(2), 97–103.
- Sederberg, P. B., Kahana, M. J., Howard, M. W., Donner, E. J., & Madsen, J. R. (2003). Theta and

- gamma oscillations during encoding predict subsequent recall. *Journal of Neuroscience*, 23(34), 10809–10814.
- Sela, T., Kilim, A., & Lavidor, M. (2012). Transcranial alternating current stimulation increases risk-taking behavior in the balloon analog risk task. *Frontiers in Neuroscience*, 6, 22.
- Shirahige, L., Melo, L., Nogueira, F., Rocha, S., & Monte-Silva, K. (2016). Efficacy of Noninvasive Brain Stimulation on Pain Control in Migraine Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Headache: The Journal of Head and Face Pain*, 56(10), 1565–1596.
- Shochat, T., Luboshitzky, R., & Lavie, P. (1997). Nocturnal melatonin onset is phase locked to the primary sleep gate. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 273(1), R364–R370.
- Siclari, F., Bernardi, G., Riedner, B. A., LaRocque, J. J., Benca, R. M., & Tononi, G. (2014). Two distinct synchronization processes in the transition to sleep: a high-density electroencephalographic study. *Sleep*, 37(10), 1621–1637.
- Siclari, F., & Tononi, G. (2017). Local aspects of sleep and wakefulness. *Current Opinion in Neurobiology*, 44, 222–227. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2017.05.008>
- Singer, W., & Gray, C. M. (1995). Visual feature integration and the temporal correlation hypothesis. *Annual Review of Neuroscience*, 18(1), 555–586.
- Smith, C. (2001). Sleep states and memory processes in humans: procedural versus declarative memory systems. *Sleep Medicine Reviews*, 5(6), 491–506.
- Solms, M. (2000). Dreaming and REM sleep are controlled by different brain mechanisms. *Behavioral and Brain Sciences*, 23(6), 843–850.
- Song, S., Howard, J. H., & Howard, D. V. (2007). Sleep does not benefit probabilistic motor sequence learning. *Journal of Neuroscience*, 27(46), 12475–12483.
- Speilberger, C. D., & Vagg, P. R. (1984). Psychometric properties of the STAI: a reply to Ramanaiah, Franzen, and Schill. *Journal of Personality Assessment*, 48(1), 95–97.
- Stagg, C. J., & Nitsche, M. A. (2011). Physiological basis of transcranial direct current stimulation. *The Neuroscientist*, 17(1), 37–53.
- Stagg, C. J., O'shea, J., Kincses, Z. T., Woolrich, M., Matthews, P. M., & Johansen-Berg, H. (2009). Modulation of movement-associated cortical activation by transcranial direct current stimulation. *European Journal of Neuroscience*, 30(7), 1412–1423.
- Steriade, M., & Amzica, F. (1998). Coalescence of sleep rhythms and their chronology in corticothalamic networks. *Sleep Res Online*, 1(1), 1–10.
- Steriade, M., Amzica, F., & Contreras, D. (1996). Synchronization of fast (30-40 Hz) spontaneous cortical rhythms during brain activation. *Journal of Neuroscience*, 16(1), 392–417.
- Steriade, M., Timofeev, I., & Grenier, F. (2001). Natural waking and sleep states: a view from inside neocortical neurons. *Journal of Neurophysiology*, 85(5), 1969–1985.
- Stickgold, R. (2005). Sleep-dependent memory consolidation. *Nature*, 437(7063), 1272.

- Stickgold, R., James, L., & Hobson, J. A. (2000). Visual discrimination learning requires sleep after training. *Nature Neuroscience*, 3(12), 1237.
- Strecker, R. E., Morairty, S., Thakkar, M. M., Porkka-Heiskanen, T., Basheer, R., Dauphin, L. J., ... McCarley, R. W. (2000). Adenosinergic modulation of basal forebrain and preoptic/anterior hypothalamic neuronal activity in the control of behavioral state. *Behavioural Brain Research*, 115(2), 183–204.
- Strijkstra, A. M., Beersma, D. G. M., Drayer, B., Halbesma, N., & Daan, S. (2003). Subjective sleepiness correlates negatively with global alpha (8–12 Hz) and positively with central frontal theta (4–8 Hz) frequencies in the human resting awake electroencephalogram. *Neuroscience Letters*, 340(1), 17–20.
- Strüber, D., Rach, S., Trautmann-Lengsfeld, S. A., Engel, A. K., & Herrmann, C. S. (2014). Antiphase 40 Hz oscillatory current stimulation affects bistable motion perception. *Brain Topography*, 27(1), 158–171.
- Stumbrys, T., Erlacher, D., & Schredl, M. (2013). Testing the involvement of the prefrontal cortex in lucid dreaming: a tDCS study. *Consciousness and Cognition*, 22(4), 1214–1222.
- Swanson, L. M., Arnedt, J. T., Rosekind, M. R., Belenky, G., Balkin, T. J., & Drake, C. (2011). Sleep disorders and work performance: findings from the 2008 National Sleep Foundation Sleep in America poll. *Journal of Sleep Research*, 20(3), 487–494.
- Tallon-Baudry, C., Bertrand, O., Hénaff, M.-A., Isnard, J., & Fischer, C. (2004). Attention modulates gamma-band oscillations differently in the human lateral occipital cortex and fusiform gyrus. *Cerebral Cortex*, 15(5), 654–662.
- Tassi, P., Bonnefond, A., Engasser, O., Hoeft, A., Eschenlauer, R., & Muzet, A. (2006). EEG spectral power and cognitive performance during sleep inertia: the effect of normal sleep duration and partial sleep deprivation. *Physiology & Behavior*, 87(1), 177–184.
- Tavakoli, A. V., & Yun, K. (2017). Transcranial alternating current stimulation (tACS) mechanisms and protocols. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 11, 214.
- Thibaut, A., Simis, M., Battistella, L. R., Fanciullacci, C., Bertolucci, F., Huerta-Gutierrez, R., ... Fregni, F. (2017). Using brain oscillations and corticospinal excitability to understand and predict post-stroke motor function. *Frontiers in Neurology*, 8, 187.
- Thorpy, M. J., Westbrook, P., Ferber, R., & Fredrickson, P. (1992). The clinical use of the Multiple Sleep Latency Test. *Sleep: Journal of Sleep Research & Sleep Medicine*.
- Thut, G., & Miniussi, C. (2009). New insights into rhythmic brain activity from TMS–EEG studies. *Trends in Cognitive Sciences*, 13(4), 182–189.
- Thut, G., Schyns, P., & Gross, J. (2011). Entrainment of perceptually relevant brain oscillations by non-invasive rhythmic stimulation of the human brain. *Frontiers in Psychology*, 2, 170.
- Thut, G., Bergmann, T. O., Fröhlich, F., Soekadar, S. R., Brittain, J. S., Valero-Cabré, A., ... Herrmann, C. S. (2017). Guiding transcranial brain stimulation by EEG/MEG to interact with

- ongoing brain activity and associated functions: A position paper. *Clinical Neurophysiology*, 128(5), 843–857. <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2017.01.003>
- Tinguely, G., Finelli, L. A., Landolt, H.-P., Borbély, A. A., & Achermann, P. (2006). Functional EEG topography in sleep and waking: state-dependent and state-independent features. *Neuroimage*, 32(1), 283–292.
- Tononi, G., & Cirelli, C. (2003). Sleep and synaptic homeostasis: a hypothesis. *Brain Research Bulletin*, 62(2), 143–150.
- Truong, D. Q., Magerowski, G., Blackburn, G. L., Bikson, M., & Alonso-Alonso, M. (2013). Computational modeling of transcranial direct current stimulation (tDCS) in obesity: impact of head fat and dose guidelines. *NeuroImage: Clinical*, 2, 759–766.
- Uehli, K., Mehta, A. J., Miedinger, D., Hug, K., Schindler, C., Holsboer-Trachsler, E., ... Künzli, N. (2014). Sleep problems and work injuries: a systematic review and meta-analysis. *Sleep Medicine Reviews*, 18(1), 61–73.
- Uhlhaas, P. J., & Singer, W. (2006). Neural synchrony in brain disorders: relevance for cognitive dysfunctions and pathophysiology. *Neuron*, 52(1), 155–168.
- Uhlhaas, P. J., & Singer, W. (2012). Neuronal dynamics and neuropsychiatric disorders: toward a translational paradigm for dysfunctional large-scale networks. *Neuron*, 75(6), 963–980.
- Van Der Werf, Y. D., Altena, E., Schoonheim, M. M., Sanz-Arigita, E. J., Vis, J. C., De Rijke, W., & Van Someren, E. J. W. (2009). Sleep benefits subsequent hippocampal functioning. *Nature Neuroscience*, 12(2), 122.
- Van Dongen, H., Maislin, G., Mullington, J. M., & Dinges, D. F. (2003). The cumulative cost of additional wakefulness: dose-response effects on neurobehavioral functions and sleep physiology from chronic sleep restriction and total sleep deprivation. *Sleep*, 26(2), 117–126.
- Vecchio, F., Miraglia, F., Gorgoni, M., Ferrara, M., Iberite, F., Bramanti, P., ... Rossini, P. M. (2017). Cortical connectivity modulation during sleep onset: A study via graph theory on EEG data. *Human Brain Mapping*, 38(11), 5456–5464. <https://doi.org/10.1002/hbm.23736>
- Vignatelli, L., Plazzi, G., Barbato, A., Ferini-Strambi, L., Manni, R., Pompei, F., & D'Alessandro, R. (2003). Italian version of the Epworth sleepiness scale: external validity. *Neurological Sciences*, 23(6), 295–300.
- Villamar, M. F., Volz, M. S., Bikson, M., Datta, A., DaSilva, A. F., & Fregni, F. (2013). Technique and considerations in the use of 4x1 ring high-definition transcranial direct current stimulation (HD-tDCS). *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, (77), e50309.
- von Mengden, I., Garcia, C., Glos, M., & Penzel, T. (2011). Influence of Slow Oscillating Transcranial Current Stimulation (so-tCS) on Electroencephalogram and Cognitive Performance. *Procedia Computer Science*, 7, 209–211.
- Vöröslakos, M., Takeuchi, Y., Brinyiczki, K., Zombori, T., Oliva, A., Fernández-Ruiz, A., ... Buzsáki, G. (2018). Direct effects of transcranial electric stimulation on brain circuits in rats

- and humans. *Nature Communications*, 9(1), 483.
- Voss, U., Holzmann, R., Hobson, A., Paulus, W., Koppehele-Gossel, J., Klimke, A., & Nitsche, M. A. (2014). Induction of self awareness in dreams through frontal low current stimulation of gamma activity. *Nature Neuroscience*, 17(6), 810.
- Voskuhl, J., Strüber, D., & Herrmann, C. S. (2018). Non-invasive brain stimulation: a paradigm shift in understanding brain oscillations. *Frontiers in Human Neuroscience*, 12.
- Vyazovskiy, V. V., Olcese, U., Hanlon, E. C., Nir, Y., Cirelli, C., & Tononi, G. (2011). Local sleep in awake rats. *Nature*, 472(7344), 443.
- Wallis, J. D. (2007). Orbitofrontal cortex and its contribution to decision-making. *Annu. Rev. Neurosci.*, 30, 31–56.
- Ward, L. M. (2003). Synchronous neural oscillations and cognitive processes. *Trends in Cognitive Sciences*, 7(12), 553–559.
- Wassermann, E. M., & Grafman, J. (2005). Recharging cognition with DC brain polarization. *Trends in Cognitive Sciences*, 9(11), 503–505.
- Werth, E., Achermann, P., Dijk, D. J., & Borbely, A. A. (1996). Topographic distribution of spindle frequency activity in the sleep EEG. *J Sleep Res*, 5 (Suppl.), 252.
- Westerberg, C. E., Florczak, S. M., Weintraub, S., Mesulam, M.-M., Marshall, L., Zee, P. C., & Paller, K. A. (2015). Memory improvement via slow-oscillatory stimulation during sleep in older adults. *Neurobiology of Aging*, 36(9), 2577–2586.
- White, J. M., & Rumbold, G. R. (1988). Behavioural effects of histamine and its antagonists: a review. *Psychopharmacology*, 95(1), 1–14.
- Wirth, M., Rahman, R. A., Kuenecke, J., Koenig, T., Horn, H., Sommer, W., & Dierks, T. (2011). Effects of transcranial direct current stimulation (tDCS) on behaviour and electrophysiology of language production. *Neuropsychologia*, 49(14), 3989–3998.
- Wright Jr, K. P., Hull, J. T., & Czeisler, C. A. (2002). Relationship between alertness, performance, and body temperature in humans. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 283(6), R1370–R1377.
- Wyatt, J. K., Dijk, D.-J., Ronda, J. M., Jewett, M. E., Powell, J. W., Dinges, D. F., & Czeisler, C. A. (1997). Interaction of circadian-and sleep/wake homeostatic-processes modulate psychomotor vigilance test (PVT) performance. *Sleep Res*, 26, 759.
- Yaffe, K., Falvey, C. M., & Hoang, T. (2014). Connections between sleep and cognition in older adults. *The Lancet Neurology*, 13(10), 1017–1028.
- Yavari, F., Nitsche, M. A., & Ekhtiari, H. (2017). Transcranial electric stimulation for precision medicine: A spatiomechanistic framework. *Frontiers in Human Neuroscience*, 11, 159.
- Yoo, S.-S., Hu, P. T., Gujar, N., Jolesz, F. A., & Walker, M. P. (2007). A deficit in the ability to form new human memories without sleep. *Nature Neuroscience*, 10(3), 385.
- Zaehle, T., Rach, S., & Herrmann, C. S. (2010). Transcranial alternating current stimulation

enhances individual alpha activity in human EEG. *PloS One*, 5(11), e13766.

Zalesky, A., Fornito, A., Seal, M. L., Cocchi, L., Westin, C.-F., Bullmore, E. T., ... Pantelis, C. (2011). Disrupted axonal fiber connectivity in schizophrenia. *Biological Psychiatry*, 69(1), 80–89.

Zisapel, N. (2007). Sleep and sleep disturbances: biological basis and clinical implications. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 64(10), 1174.