

**Alma Mater Studiorum - Università Di Bologna**

**DOTTORATO DI RICERCA  
IN MEDICINA DEL SONNO  
XXI CICLO**

**TESI DI DOTTORATO**  
**Settore scientifico disciplinare di afferenza: MED26**

**Titolo tesi**

**SONNO E FUNZIONI COGNITIVE:  
RUOLO DELLA MICROSTRUTTURA  
DEL SONNO NREM**

Presentata da: Dott.ssa Debora Aricò

Coordinatore Dottorato:  
Prof. Pasquale Montagna

Relatore:  
Prof. Pasquale Montagna

**Esame finale anno 2009**

## **Indice:**

Introduzione.....	3
Definizione e significato del CAP.....	6
Regole di scoring .....	10
Il CAP nelle varie età della vita.....	21
CAP e struttura del sonno.....	25
Riscontri clinici nell'adulto .....	27
Riscontri clinici nel bambino .....	41
Mapping topografico delle componenti del CAP.....	53
Teoria dell'omeostasi sinaptica .....	58
Studio.....	66
• Introduzione.....	66
• Materiali e metodi .....	68
• Risultati.....	88
• Discussione.....	97
Bibliografia.....	107

## INTRODUZIONE

L'obiettivo principale di questa tesi è di presentare un contributo empirico su uno strumento di valutazione clinica e di ricerca quale l'analisi di un ritmo spontaneo endogeno del sonno, il cyclic alternating pattern, CAP. Il primo a parlare di *tracé alternant cyclique* fu Arfel, nel 1975, che lo descrisse sia in condizioni normali che in condizioni patologiche. Il CAP rappresenta una modalità attiva che il cervello mette in atto per preservare il sonno, determinando continue fluttuazioni del livello di vigilanza. Il cervello che dorme infatti non è “staccato” dal mondo esterno, ma deve interagire con esso, quindi seleziona continuamente ed elabora le informazioni che arrivano dall'esterno. Vi è un gioco di forze tra stimoli risveglianti e stimoli ipnoinducenti. In assenza di perturbazioni risveglianti, l'equilibrio viene mantenuto. Di fronte ad un stimolo, invece, il cervello mette in atto dei meccanismi correttivi per mantenere l'equilibrio e garantire la continuità del sonno. Si è visto che le variazioni dei parametri della macrostruttura e del CAP presentano una sensibilità gerarchica agli stimoli sia di natura interna che esterna. Questo vuol dire che sembra che gli eventi perturbanti vengano prima “filtrati” a livello della microstruttura per poi riverberarsi sulla macrostruttura con conseguente cambio di stadio. Il cervello dispone,

dunque, di un sofisticato strumento, il CAP, che si mostra essere flessibile, dinamico e adattativo.

In questo lavoro viene data una presentazione del CAP, con riferimento al suo significato funzionale, alle regole per lo scoring, alle caratteristiche EEG delle varie componenti del CAP e alle variazioni fisiologiche del CAP legate alle varie età. Sono state, in seguito, passate in rassegna alcune patologie del sonno studiate alla luce dei parametri CAP, quali insonnia, OSAS e narcolessia negli adulti. Nei bambini è stato preso in esame il CAP in diversi disturbi dello sviluppo neuropsicologico, quali la sindrome di Angelman e lo spettro autistico, malattie di origine genetica causa spesso di ritardo mentale come la sindrome di Down e la sindrome dell' X fragile.

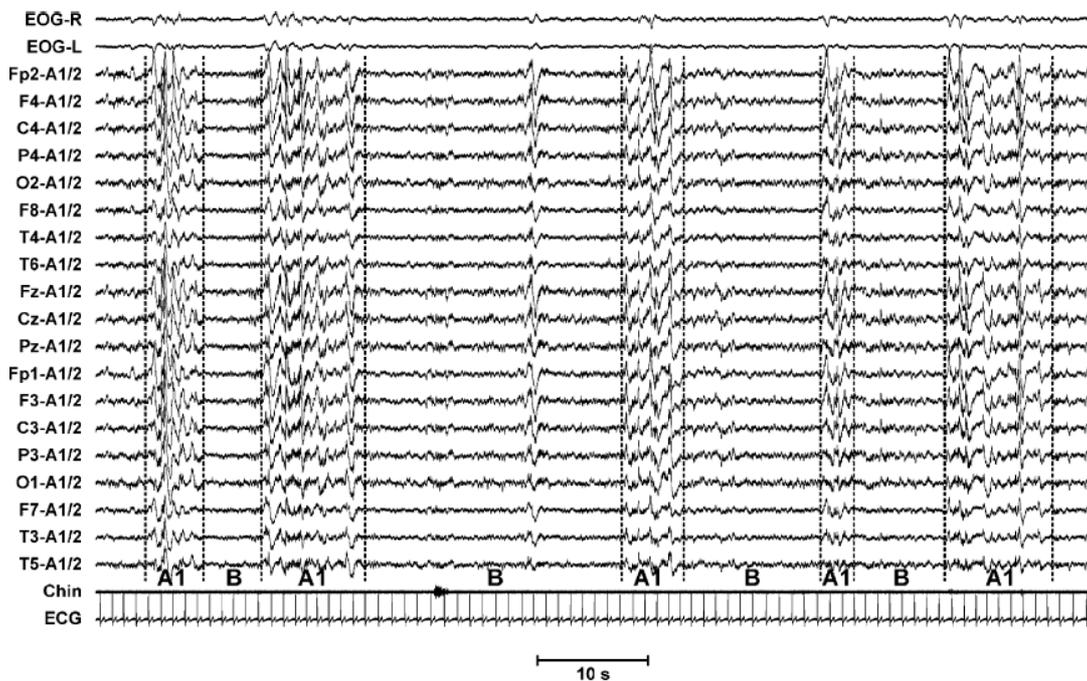
La seconda parte di questo lavoro presenta lo studio condotto durante il dottorato, con 8 soggetti sani normali, sottoposti a registrazioni polisonnografiche e valutazione neuropsicologica ripetute. Questo lavoro prende l'avvio da recenti teorie che sottolineano una funzione fondamentale del sonno, quella di consolidare e migliorare l'apprendimento e la memoria. Particolari componenti dell'EEG durante sonno NREM, le onde lente e più esattamente quelle nel range 0.5-2.5 Hz, sembrano avere un ruolo specifico per questa funzione. Queste onde sembrano coinvolte in un processo di cosiddetto *downscaling* sinaptico, di abbassamento della forza sinaptica che determinerebbe benefici effetti sia sulle funzioni cellulari che

sulla performance. Naturalmente questa è e resta una teoria ma vi sono crescenti evidenze che sembrano confermarla.

## **Definizione e significato del CAP**

Il Cyclic Alternating Pattern (CAP) è definito come un pattern EEG stereotipato e periodico del sonno NREM, caratterizzato da ripetute sequenze spontanee di eventi transienti che si stagliano chiaramente dal ritmo di fondo, con una brusca variazione della frequenza/ampiezza. Questi eventi transienti rappresentano la fase A del CAP, mentre il ritorno al ritmo di fondo coincide con l'intervallo che separa gli elementi ripetitivi (fase B). Sia la fase A che la fase B del CAP possono durare dai 2 ai 60 secondi. Questo pattern EEG è definito ciclico perché gli eventi transienti si ripetono ciclicamente. Ogni ciclo è formato da una fase A seguita da una fase B. Una successione di cicli CAP compone una sequenza CAP, più esattamente ci devono essere almeno due cicli CAP per avere una sequenza. Tutte le sequenze CAP iniziano con una fase A e finiscono con una fase B. In maniera più puntuale si può dire che una sequenza CAP è data da tre o più fasi A separate l'una dall'altra da almeno 2 secondi e non più di 60, con l'ultima fase A che deve chiudere la sequenza ma non deve essere inclusa in essa. Le restanti fasi A, separate da più di 60 secondi, sono considerate "isolate", non sono incluse nella sequenza e di conseguenza non verranno conteggiate nel calcolo del CAP rate (la percentuale di sonno NREM occupato da sequenze CAP). Il CAP appare in tutti gli stadi del sonno

NREM. Nella figura 1 viene dato un esempio di un periodo CAP nel sonno NREM.



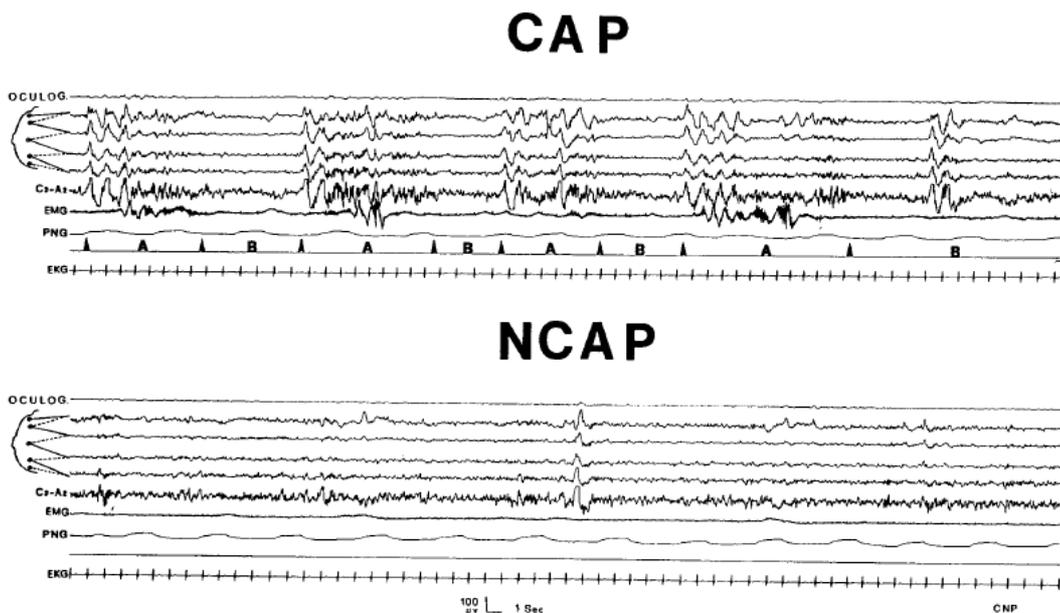
*Fig. 1*

Da un punto di vista funzionale, il CAP rappresenta un indice di instabilità del livello di arousal che fluttua da una condizione di maggiore arousal (eventi transienti o fase A) ad una di minore arousal (intervallo tra eventi transienti o fase B) e questa instabilità può essere dovuta a svariati fattori interni o esterni. L'*arousal instability* si associa ad un'attivazione contemporanea di vari parametri polisomnografici (l'EEG, il tono muscolare, la frequenza cardiorespiratoria) durante la fase A, si ha invece un ritorno alla baseline o una attenuazione degli stessi durante la fase B. E' importante sottolineare che questa modulazione dell'arousal interessa non

solo l'EEG ma anche funzioni autonome, muscolari e comportamentali, che aumentano durante la fase A e diminuiscono durante la fase B (Terzano et al, 1985). Inoltre, è stato ipotizzato che ci sia una sorta di finestra permissiva durante il sonno NREM, che coinciderebbe con la fase A e che renderebbe più facile la comparsa di eventi patologici, mentre la fase B rappresenterebbe una condizione di inibizione degli stessi. Questo è stato definito *gating effect*. Vale a dire, la fase A costituirebbe una sorta di gate attraverso il quale certi eventi patologici possono palesarsi più facilmente. Il *gating effect* è stato riportato in letteratura su vari disturbi del sonno, quali il *periodic limb movement (PLM)*, il bruxismo, la sindrome delle apnee ostruttive in sonno (OSAS), le anomalie epilettiformi, l'insonnia. Dall'analisi della letteratura infatti emerge che la fase A dà l'avvio e modula la distribuzione di eventi epilettiformi (Parrino et al. 2000; Halasz et al. 2002) e quella delle contrazioni muscolari periodiche in sonno (Parrino et al. 1996). La fase B, invece, è risultata essere strettamente associata all'apnea durante sonno con la ripresa del respiro durante la fase A (Terzano et al. 1996).

Il CAP è un ottimo indice di sonno non ristoratore, l'aumento del CAP di fatto indica che uno o più fattori stanno interferendo con il processo di consolidamento del sonno. Diversamente, il non-CAP, cioè l'assenza di CAP per più di 60 secondi, si associa ad una globale condizione di stabilità

dove tutti i sottosistemi che controllano ed influenzano i meccanismi del sonno hanno raggiunto una reciproca interazione bilanciata. Questo ci porta ad ipotizzare che il CAP indichi una serie di operazioni che il cervello che sta dormendo deve mettere in atto per “ricalibrarsi”, per adeguarsi alle condizioni ambientali, riflette dunque la flessibilità dell’organizzazione del sonno. La figura 2 mostra un periodo di CAP e uno di non-CAP.



*Fig. 2*

## **Regole di scoring**

Come ricordato, il CAP è uno specifico tipo di attività periodica che può caratterizzare tutti gli stadi del sonno NREM. La fase A, rispetto alla fase B, è caratterizzata da ritmi più lenti di alto voltaggio o più rapidi (generalmente di più basso voltaggio) o da un mix di entrambi. Sebbene non si possa affermare con sicurezza che la fase A sia costituita da pattern EEG stereotipati, possiamo comunque evidenziare gli eventi fasici che maggiormente la caratterizzano:

- delta burst
- onde al vertice transienti
- sequenze di complessi K (con o senza spindles)
- bursts polifasici
- K-alpha
- alfa intermittente
- arousal EEG

Viene data qui di seguito una breve descrizione di ognuno di questi eventi fasici.

Con l'espressione delta burst si intende una sequenza di almeno due onde con una frequenza che va da 0.5 Hz a <4 Hz e un'ampiezza che sia maggiore di almeno 1/3 rispetto all'attività di fondo. I delta burst hanno una maggiore diffusione sulle regioni fronto-temporali. Nel tracciato

polisonnografico iniziano ad essere presenti già nello stadio 2 del sonno NREM per farsi via via più frequenti negli stadi 3 e 4. Rispetto al ritmo delta degli stadi di sonno ad onde lente (S3 e S4), i delta burst tendono ad essere più lenti. Sono attivazioni di origine corticale con influenza e modulazione talamica (nucleo reticolare). I delta burst possono essere elicitati da stimoli sensoriali (acustici, tattili, ecc.) e spesso preannunciano movimenti corporei che emergono dagli stadi di sonno profondo (S3 e S4). Corrispondono ad una debole variazione del livello di arousal (nel senso di un'attivazione) che spesso si associa a modeste variazioni poligrafiche. Possono precedere segni di desincronizzazione EEG.

Per onde al vertice transienti si intende potenziali EEG di 50-200 ms con un'ampiezza variabile, che può arrivare fino a 250  $\mu$ V e che sono maggiormente rappresentati sulle regioni centrali al vertice. Sequenze di queste onde, spesso due o più, della durata di 2 o più secondi, segnano il passaggio dallo stadio 1 allo stadio 2 del sonno NREM. Da un punto di vista neurofisiologico, sono considerati come potenziali evocati ed hanno caratteristiche simili alle risposte acustiche evocate in veglia. Hanno la loro massima espressione sulle regioni al vertice.

Sequenze di complessi K (due o più) miste o no a fusi del sonno possono comparire negli stadi 2, 3 e 4 del NREM. Il complesso K è un pattern EEG bi-trifasico con una componente rapida negativa seguita da un'onda

positiva più lenta. La durata può variare da mezzo secondo fino a 2 secondi.

I burst polifasici sono dei gruppi di onde delta ad alto voltaggio misti a ritmi theta, alfa o beta. I burst polifasici possono essere composti da due o più picchi delta. Si riscontrano negli stadi 2, 3 e 4, è molto frequente la loro presenza nello stadio 2, soprattutto prima dell'inizio del sonno REM.

Per K-alpha si intende un complesso K immediatamente seguito da un alfa burst. Questo pattern EEG ha una durata di 2 o più secondi.

Per alfa intermittente si indica un ritmo di 8-13 Hz che è maggiormente evidente nelle regioni posteriori, occipitali. All'inizio del sonno il ritmo alfa si diffonde anteriormente, poi durante lo stadio 1 si frammenta in sequenze intermittenti per poi scomparire. Può verificarsi che ci sia un aumento nell'ampiezza e una diminuzione della frequenza proprio prima che l'alfa scompaia. Si può inoltre presentare al riapparire dello S1 e durante il sonno REM.

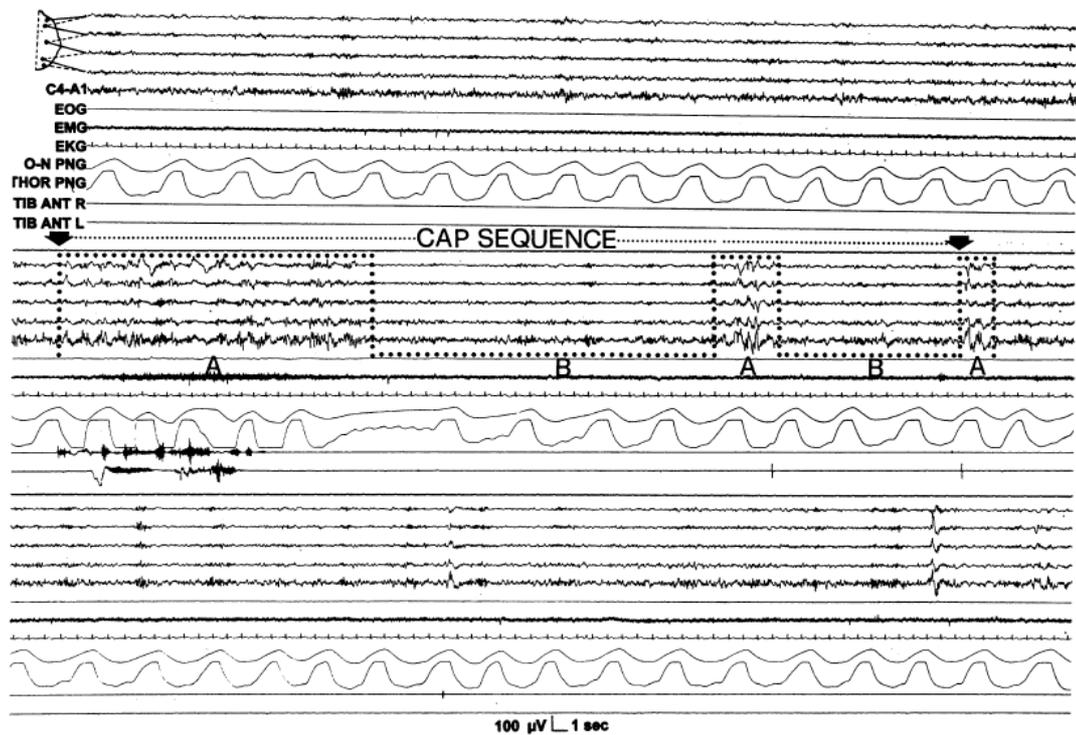
Gli arousal EEG sono bruschi passaggi a ritmi più rapidi (alpha, theta, beta, ma non gli spindles) della durata di almeno 3 secondi che interrompono brevemente la continuità del sonno (ASDA). Rappresentano un elevato livello di attivazione interna e si associano a forti stimolazioni esogene o endogene. Gli arousal spontanei sono caratterizzati da un aumento

notturno età-correlato e da stabilità età-correlata nel sonno ad onde lente (Slow Wave Sleep, SWS) e nel sonno REM.

Da questa descrizione si evince che le caratteristiche morfologiche della fase A dipendono e sono legate anche allo stadio di sonno nel quale ci si trova, quindi nello stadio 1 ci saranno soprattutto sequenze alfa e onde al vertice, nello stadio 2 avremo principalmente sequenze di complessi K e K-alfa, negli stadi di sonno ad onde lente (S3 e S4) saranno preponderanti sequenze di onde lente ipersincrone con un'ampiezza  $>1/3$  rispetto al ritmo di fondo.

Come ricordato, una sequenza CAP è formata da una successione di cicli CAP, un ciclo è composto da una fase A seguita da una fase B. Ogni fase può avere una durata da 2 a 60 secondi. Le sequenze CAP non hanno limiti massimi nella durata totale e nel numero di cicli CAP, ma va ricordato che in ogni caso sono necessari almeno due cicli CAP per formare una sequenza CAP. Ci devono essere, pertanto, tre fasi A in successione, le prime due devono essere seguite da una fase B, la terza da non-CAP. Per non-CAP si intende l'assenza di CAP per più di 60 secondi.

La figura 3 presenta un periodo di registrazione continua con non-CAP (sopra), CAP (al centro) e di nuovo non-CAP (sotto). La parte centrale mostra inoltre i requisiti minimi per la definizione di una sequenza CAP.



*Fig. 3*

Se si ha una fase A isolata (cioè separata da più di 60 secondi da un'altra fase A) questa verrà classificata come non-CAP. Le regole generali di scoring del CAP ci impongono inoltre che l'inizio di una sequenza CAP deve essere preceduto da non-CAP, quindi come detto, da un pattern EEG continuo tipico del sonno NREM per più di un minuto. Ma contraddicono questa regola tre diverse eccezioni, ossia non ci sono limiti temporali in questi 3 casi: 1) prima della prima sequenza CAP; 2) dopo una transizione dalla veglia al sonno; 3) dopo la transizione dal REM al NREM.

I passaggi di stadio non interrompono una sequenza CAP, quindi proprio perché le sequenze CAP possono estendersi su più stadi, le stesse possono includere diverse attività (fase A e fase B). E' frequente l'osservazione che sequenze CAP precedano il passaggio dal NREM al REM e finiscano proprio prima che il REM abbia inizio.

In condizioni normali il CAP non è presente nel sonno REM dove, a causa della perdita di sincronizzazione, le fasi A consistono solo ed esclusivamente di pattern di desincronizzazione (fasi transienti di attivazione o arousal). Un intervallo di 3-4 minuti tra le fasi A durante REM contravviene ai criteri di scoring del CAP. Ci sono però alcune patologie (ad esempio eventi apnoici periodici associati a sonno REM) che sono caratterizzate dalla fase A che ricorre ad intervalli <60 secondi. Queste possono produrre sequenze CAP durante il sonno REM.

I movimenti corporei possono dare l'avvio o interrompere sequenze CAP. I movimenti corporei che sono associati a una o più fasi A nell'intervallo temporale di 2-60 secondi possono essere inclusi nella sequenza CAP se gli altri criteri di scoring sono rispettati.

Per quanto riguarda le regole di registrazione e il montaggio, va ricordato che il CAP interessa estese aree corticali, quindi, la fase A in particolare dovrebbe essere visibile su diversi canali EEG. Le derivazioni bipolari come Fp1-F3, F3-C3, C3-P3, P3-O1 o Fp2-F4, F4-C4, C4-P4, P4-O2

permettono di ottenere una buona detezione del fenomeno. Nell'*Atlas, rules and recording techniques for the scoring of cyclic alternating pattern (CAP) in the human sleep* (Terzano et al., 2001) si raccomanda una calibrazione di  $50\mu\text{V}/7\text{ mm}$  con una costante di tempo di 0.1 secondi ed un filtro ad alta frequenza nel range di 30 Hz (per registrazioni su carta). Le derivazioni monopolari EEG (C3-A2 o C4-A1 e O1-A2 o O2-A1) sono anche adeguati per lo scoring del CAP. Per studi clinici, potrebbero essere inclusi nella registrazione standard polisonnografica il flusso oro-nasale, lo sforzo respiratorio, il ritmo cardiaco, la saturazione dell'ossigeno e i movimenti delle gambe.

Per lo scoring del CAP vengono stabiliti dei limiti che sono sia di natura temporale che di ampiezza. Per quanto riguarda i limiti temporali, la durata minima della fase A e della fase B è 2 secondi. Se due fasi A consecutive sono separate da un intervallo  $<2$  secondi, sono combinate in un'unica fase A. Al contrario, se risultano separate da un intervallo  $\geq 2$  secondi, esse vengono scorate come eventi indipendenti.

Per quanto riguarda i limiti nell'ampiezza va detto che i cambiamenti nell'ampiezza sono cruciali per lo scoring del CAP. Le attività fasiche che danno inizio ad una fase A devono essere almeno  $1/3$  più alte rispetto all'ampiezza di fondo (calcolati da 2 secondi prima dell'inizio della fase A a 2 secondi dopo la fine della fase A). Ci sono casi in cui risulta difficile individuare i limiti della fase A per via delle incongruenti modificazioni nel

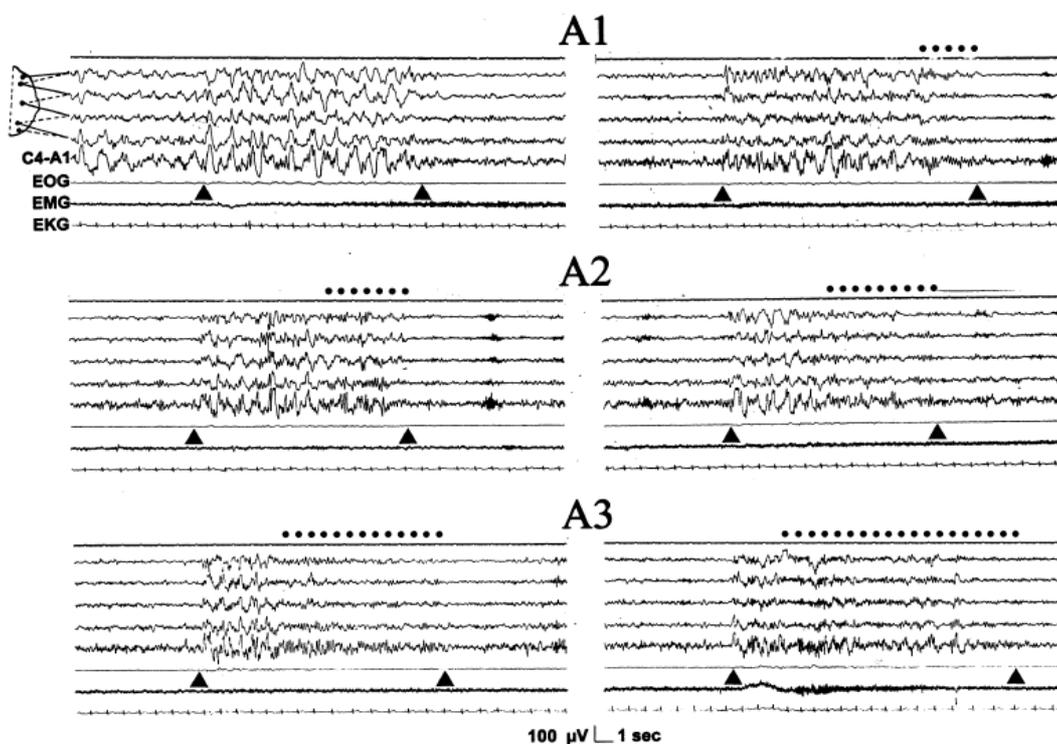
voltaggio. In questi casi sia l'inizio che la fine della fase A sono stabiliti sulla base di una concordanza ampiezza/frequenza nella maggior parte dei canali EEG.

La fase A del CAP è classificata in tre differenti tipi: A1, A2 e A3. Questa classificazione si basa su una proporzione tra onde lente ad alto voltaggio (sincronizzazione EEG) e ritmi rapidi a bassa ampiezza (desincronizzazione EEG) per l'intera durata della fase A. Nel sottotipo A1 è preminente la sincronizzazione EEG, infatti, laddove presente, la desincronizzazione occupa <20% dell'intera durata della fase A. Le A1 sono principalmente formate da delta burst, sequenze di complessi K, onde al vertice transienti, burst polifasici con <20% di desincronizzazione. Più dettagliatamente, si ha ritmo alpha nello stadio 1 e sequenze di complessi K o delta burst negli altri stadi NREM. Le A1 si associano a leggere o medie attivazioni poligrafiche. Il sottotipo A2, invece, è costituito da un misto di ritmi lenti e rapidi con il 20-50% occupato da desincronizzazione EEG. Include principalmente burst polifasici, con desincronizzazione EEG dal 20 al 50%, in particolare complessi K con attività delta e beta, K-alpha, arousal con sincronizzazione ad onde lente. Le A2 si associano a moderato aumento del tono muscolare e/o della frequenza cardiorespiratoria. Il sottotipo A3 è caratterizzato da ritmi rapidi a basso voltaggio con più del 50% della durata della fase A di desincronizzazione. Questo sottotipo include: K-alpha, arousal EEG e

burst polibasici con >50% di desincronizzazione. Un artefatto da movimento in una sequenza CAP è anche classificato come A3. Le A3 si associano ad un notevole aumento del tono muscolare e/o del rateo cardiorespiratorio.

La figura 4 mostra un esempio di fase A1, A2 e A3

*Fig. 4*



Da un punto di vista dell'architettura fisiologica del sonno, si può affermare che le A1 sono coinvolte nella "costruzione" e nel mantenimento del sonno profondo (Ferrillo et al., 1997), mentre le A2 e A3 sono maggiormente presenti negli stadi di sonno leggero che precedono l'inizio della sincronizzazione EEG del sonno REM (Terzano et al., 1994).

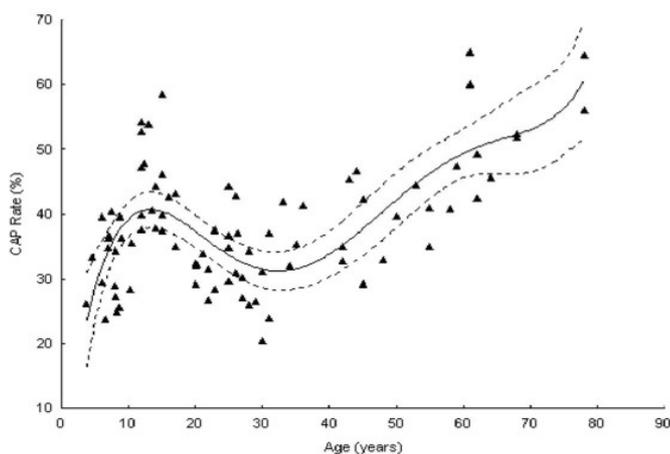
Le sequenze CAP possono includere tutti e tre i sottotipi della fase A. Tutte le componenti della fase A del CAP mostrano delle differenze nelle varie età, qui semplicemente ne viene dato un breve accenno, saranno in seguito trattate più dettagliatamente. Le A1 mostrano una forte presenza negli anni che vanno dall'adolescenza (72%) all'età adulta (61%), si arriva ad un plateau nella fase tra età adulta e età media (62%), mentre si ha una caduta nella fase tra età adulta e senilità (47%). Per quanto riguarda le A2 e le A3 si può dire che esibiscono un trend in continua ascesa dall'infanzia alla vecchiaia (Parrino et al., 1998). I valori più bassi delle A2 e A3 sono stati riscontrati nel gruppo di bambini in età scolare. Questi valori delle A2 e A3 sono peraltro molto simili a quelli nella frequenza degli arousal.

Uno degli indici maggiormente usati nello scoring del CAP è il CAP rate. Per CAP rate si intende il rapporto percentuale del tempo totale di CAP sul tempo totale di sonno NREM. Il CAP rate può essere misurato sia nel sonno NREM che nei singoli stadi del NREM (in questo caso sarà dato dal rapporto percentuale del tempo di CAP in un determinato stadio di sonno sulla durata totale dello stesso stadio). Il CAP rate è un indicatore della qualità del sonno, il suo rapporto è inversamente proporzionale alla qualità del sonno: maggiore è il CAP rate peggiore è la qualità del sonno. E' uno degli indici del CAP più usati per scopi clinici.

Tra gli altri indici del CAP importante è l'A1 index, vale a dire il numero di fasi A1 per ora di sonno NREM e di S1, S2 e SWS, lo stesso dicasi per A2 e A3 index. Nella letteratura vengono molto spesso riportati anche la durata e la percentuale di ciascuna fase A, la durata della fase B, il numero e la durata delle sequenze CAP e il CAP index (numero di cicli CAP per minuto di sonno NREM).

## Il CAP nelle varie età della vita

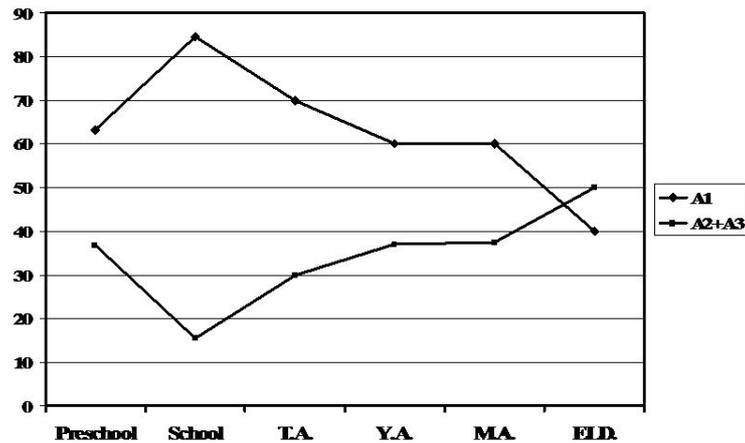
Come abbiamo visto, il CAP rate è un importante indicatore della qualità del sonno. Naturalmente, anche per questo indice il significato è diverso a seconda delle varie fasi della vita, come per le A1, A2 e A3. Indicativamente si può affermare che il CAP rate sale durante l'età prescolare e scolare per arrivare a circa il 43% nell'adolescenza, scende poi nei giovani adulti (20-39 anni), arrivando al 31.9%, risale di poco, fino al 37.5% nella fascia 40-55 anni, per poi salire fino al 55.3% nella terza età (>60 anni). Il CAP rate mostra dunque un'evoluzione complessa durante il corso della vita, dall'infanzia alla vecchiaia, con due massimi (uno durante la pubertà con prevalenza di A1 ed un altro nella vecchiaia con prevalenza di A3) ed un minimo per i giovani adulti (Parrino et al., 1998). La fig 5 mostra chiaramente questo trend nelle varie età.



*Fig. 5*

Durante il periodo della preadolescenza si ha un aumento del CAP rate (Bruni, 2003) rispetto ai valori dei teenagers a dei giovani adulti (un CAP rate di 25.9% in bambini di età prescolare dai 3 ai 6 anni, e di 33.4% nei bambini in età scolare dai 6 ai 10 anni). E' particolarmente importante avere dei dati normativi sul CAP nei bambini (e più specificatamente sulle varie fasce d'età dei bambini), di più o almeno tanto quanto negli adulti, perché a questa età la soglia dell'arousal è più alta e il processo omeostatico del sonno più stabile non permette che ci sia una distruzione della macrostruttura.

In riferimento alle A1 si vede che queste mostrano un aumento dall'età prescolare (3-6 anni) all'età scolare (6-10 anni), dove assistiamo ad un picco, per poi diminuire progressivamente da questa fascia d'età a quella dei teenager. Andando avanti con l'età, come si evince dalla figura 6, si ha un plateau nella distribuzione delle A1 tra giovani adulti ed età media, per poi avere una diminuzione nella vecchiaia. La curva delle A2 e A3 ha una morfologia speculare, le percentuali si abbassano nell'età scolare per poi rialzarsi nella vecchiaia.



*Fig 6*

Se prendiamo in considerazione due fasce d'età, quella dei bambini prescolari e quella dei bambini in età scolare vediamo come nella prima categoria le A1 siano più basse e le A2+A3 siano più alte rispetto alla seconda. Questi dati potrebbero essere spiegati alla luce di una più alta instabilità del sonno in questi bambini o di processi di maturazione nello sviluppo del sonno.

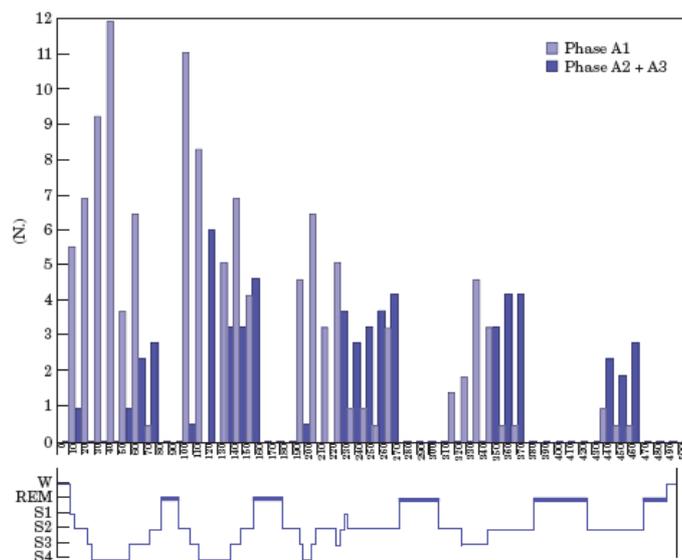
L'aumento del CAP rate in bambini in età scolare accompagnato da un'alta percentuale di A1 (Bruni et al., 2002) porta a pensare che il sonno in questi bambini non sia disturbato, ma che il sistema omeostatico richieda un più alto numero di oscillazioni allo scopo di mantenere la funzione ristorativa. E' infatti ampiamente documentato (Terzano e Parrino, 2000) che le A1 del CAP siano espressione di meccanismi neurali per il mantenimento del sonno NREM, mentre le A2 e le A3 siano esempio di frammentazione dello stesso. Essendo il SWS associato al valore ristorativo del sonno, le A1

potrebbero giocare un ruolo fondamentale nel mantenere questa funzione. Quindi essendo il sonno dei bambini in età scolare considerato il gold standard, il “migliore sonno” per lunghezza, continuità e caratteristiche ristorative, l’elevata percentuale di A1 che si riscontra in questi soggetti rafforza l’ipotesi che i delta burst siano da valutare come fenomeni di attivazione che rinforzano il sonno piuttosto che “arousal”.

Ad una determinata età, nel sonno normale, i parametri del CAP tendono a restare stabili. Il CAP rate, ad esempio, tende a restare simile nelle varie notti, ha cioè una bassa variabilità intraindividuale da notte a notte (Terzano et al., 1986)

## CAP e struttura del sonno

Come ben si sa, l'organizzazione del sonno si basa sull'alternanza ciclica tra due differenti stati neurofisiologici, il NREM e il REM. Il primo è caratterizzato da sincronizzazione EEG che aumenta all'aumentare della profondità del sonno, il REM invece è caratterizzato da desincronizzazione EEG. Proprio l'alternarsi di questi due stati determina la macrostruttura del sonno. Il NREM inizia con una lenta branca discendente dagli stadi più superficiali a quelli più profondi, continua con una minimo centrale che rappresenta gli stadi più profondi e finisce con una branca ascendente, espressione degli stadi di sonno superficiali che precedono il sonno REM. Per cui si può individuare un pattern continuo di costruzione (branche discendenti), mantenimento (minimo) e risoluzione (branche ascendenti) della sincronizzazione EEG.



Ci sono chiare evidenze che le fluttuazioni EEG spontanee ogni 20-40 secondi della periodicità del CAP siano implicate nei meccanismi che regolano la produzione e attenuazione delle attività ad onde lente durante il sonno. Le oscillazioni EEG che accompagnano il passaggio dagli stadi di sonno superficiali al sonno profondo sono espresse sostanzialmente dalle fasi A. Infatti in un ciclo di sonno, circa il 90% delle fasi A si colloca nelle branche discendenti ed il 92% delle fasi A individuate nei minimi (SWS) è A1, mentre il 64% delle fasi A individuate nelle branche ascendenti è A2 (45%) o A3 (19%).

Quindi si può affermare che la costruzione ed il mantenimento del SWS sia raggiunto attraverso un processo di instabilità EEG periodica accompagnata da modulazioni neurovegetative moderate. Invece, l'interruzione del SWS e la successiva comparsa di sonno REM si associano a desincronizzazione EEG e ad una notevole attivazione delle funzioni muscolari ed autonome.

## **Riscontri clinici del CAP nell'adulto**

Da un esame della letteratura emerge che il CAP è stato studiato in relazione a svariate patologie, direttamente o indirettamente legate al sonno: insonnia, atrofia multisistemica, disturbo depressivo maggiore, sindrome delle aumentate resistenze delle vie aeree superiori, (upper airway resistance syndrome, UARS), sindrome delle apnee ostruttive in sonno (OSAS), narcolessia, movimenti periodici in sonno (periodic limb movements disorder, PLMD), sindrome delle gambe senza riposo (restless legs syndrome, RLS), fatica cronica, epilessia focale e generalizzata, emicrania associata a sonno con aura, eating disorders, fibromialgia, alternating leg muscle activation durante sonno (ALMA), sindrome di Lennox-Gastaut, epilessia notturna del lobo frontale, distonia parossistica notturna, attacchi di panico, infezione da HIV. Sarebbe impossibile dare in questa sede una descrizione esauriente di tutte le patologie studiate in relazione al CAP, per questo motivo ne sono state scelte soltanto alcune. La scelta è caduta su quei disturbi o sindromi con le quali più frequentemente il clinico esperto in medicina del sonno si trova a dover fare i conti: insonnia, narcolessia, sindrome delle apnee ostruttive in sonno.

## *Insonnia*

Secondo il Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-IV) l'insonnia è un disturbo nell'inizio o nel mantenimento del sonno o la sensazione di sonno non ristoratore per almeno un mese. I principali sintomi dell'insonnia sono: inizio di sonno ritardato, sonno interrotto, risvegli precoci al mattino, scarsa qualità del sonno. Tutto questo ha delle ripercussioni sulla capacità di svolgere le normali attività quotidiane diurne, in quanto spesso l'insonnia si porta dietro una serie di sintomi diurni quali irritabilità, sonnolenza, umore depresso o ansia. Nel caso in cui l'insonnia non si associ a disturbi mentali, condizioni mediche generali o all'uso di farmaci si definisce insonnia primaria.

Nell'insonnia vi è spesso una dicotomia tra i dati polisonnografici e quanto riportato dai soggetti, anche attraverso interviste diagnostiche, diari o questionari. Questo è dovuto molto probabilmente al fatto che lo scoring eseguito su epoche di 30 secondi, necessari per distinguere i vari stadi di sonno tra di loro e rispetto alla veglia, risulta inadeguato per avere una analisi fine dell'EEG. Inoltre, molto spesso l'insonnia si associa ad un elevato rate metabolico, aumento della frequenza cardiaca, aumento del tono simpatico, delle concentrazioni plasmatiche di cortisolo, indicando una aumentata attivazione del

sistema nervoso o iperarousal. Negli ultimi anni la quantificazione degli arousal secondo le regole dell'ASDA (American Sleep Disorders Association) è stata eseguita su un numero elevato di disturbi del sonno, come espressione di sonno frammentato. In realtà, il numero degli arousal EEG non sembra essere aumentato nei pazienti insonni. Questo dato indica che il mero conteggio di questi eventi, degli arousal, non riflette adeguatamente i processi del sonno disturbato. Diversamente, sia studi clinici che sperimentali mostrano in pazienti insonni una correlazione tra CAP rate e valutazioni soggettive del loro sonno. E' stato condotto uno studio (Parrino et al., 2004) su 50 soggetti con insonnia primaria e 25 soggetti senza disturbi del sonno. Ogni paziente insonne dopo una notte di adattamento è stato sottoposto a due registrazioni polisonnografiche, a doppio cieco randomizzate. Venticinque di loro sono stati sottoposti a sequenza placebo-trattamento e 25 alla sequenza trattamento-placebo. Rispetto ai controlli, i pazienti insonni con placebo hanno mostrato un significativo aumento del CAP rate, di tutte le fasi A del CAP (A1, A2 e A3), della veglia notturna, dello S1, degli arousal EEG, e ridotti valori nel total sleep time e nel sonno ad onde lente. Rispetto alla condizione placebo, il trattamento ha ridotto il CAP rate, le A1 e A2, ma ha avuto solo un marginale effetto sulle A3 e gli arousal. Come ci si

potrebbe aspettare, il trattamento ha riportato nella norma il total sleep time, i risvegli notturni, lo stadio 1 ed il sonno ad onde lente.

Il cervello che dorme non è in condizioni di assoluto isolamento sensoriale ma esplora e valuta tutte le informazioni, preservando o modificando i suoi stati interni. Il sonno può, dunque, essere visto come il risultato di un continuo compromesso tra la promozione del sonno e stimoli organici, ambientali e psichici che possono interferire. Il cervello deve mettere in atto operazioni volte a trasformare questi eventi perturbanti in elementi EEGrafici fondamentali per l'organizzazione del sonno.

Il CAP appare, in questo delicato equilibrio, come un' arma a doppio taglio: esso stesso fino ad un determinato livello riflette effetti fisiologici, alti livelli, invece, indicano una difficoltà del cervello di consolidare e preservare il sonno, con la reale possibilità di avere effetti dannosi. Le variabili del CAP sembrano essere le più sensibili ad ogni fonte di perturbazione, interna o esterna che sia. L'analisi della microstruttura del sonno permette di stabilire quali fattori eziologici (che possono essere di varia natura: dolore, depressione, apnee, epilessia, PLM) esercitano un'azione destabilizzante sul sonno, che si riflette nell'aumento del CAP rate. Quindi il CAP può migliorare la nostra conoscenza sulla diagnosi ed il trattamento dell'insonnia.

Uno studio del 1992 di Terzano e collaboratori arriva alle stesse conclusioni. Questo lavoro è stato eseguito su 12 soggetti con insonnia psicofisiologica e 6 soggetti normali, di controllo. Tutti i soggetti sono stati sottoposti, dopo una notte di adattamento volta ad escludere l'effetto prima notte, a 2 notti di registrazione. Venti minuti prima della buonanotte ogni soggetto ha ricevuto una singola dose o di placebo e di zolpidem. La somministrazione è stata random e a doppio cieco. Al risveglio, dopo ogni notte di registrazione, i soggetti sono stati sottoposti ad un questionario, integrato da una scala visiva analogica (VAS), più alto era il valore della scala peggiore risultava il giudizio del soggetto sulla qualità del proprio sonno. Da questo studio è emerso che non vi erano sostanziali differenze nei parametri tradizionali di sonno tra controlli con placebo e insonni con placebo. Da un punto di vista microstrutturale, invece, il CAP rate è stato più alto tra gli insonni che tra i placebo. Sotto trattamento, il CAP rate negli insonni scendeva da oltre il 62% al 26.8%, mentre negli insonni con placebo era solo moderatamente diminuito. La scala di autovalutazione del sonno mostrava differenze evidenti solo tra insonni trattati (15 mm) e insonni non trattati (45 mm) E' stato mostrato, dunque, come i soggetti insonni non trattati mostrassero un CAP rate significativamente maggiore rispetto ai controlli non trattati,

mentre nessun altro parametro del sonno indicava differenze tra i due gruppi. Anche in questo caso si sottolinea l'importanza del CAP in quanto può offrire informazioni complementari alla stadiazione classica, spesso più sensibili e consistenti sui disturbi del sonno e sulle modificazioni farmacologiche. Infatti i cambiamenti paralleli nel CAP rate e nell'autovalutazione del sonno possono spiegare perché spesso persino il prolungare le ore di sonno non garantisca una sensazione di sonno soddisfacente. Questo avviene quando la sensazione soggettiva di sonno ristoratore e la continuità del sonno sono minate dall'eccessivo ammontare di CAP rate. Il comportamento funzionale del CAP e i suoi legami dinamici con i livelli macrostrutturali e gli aspetti qualitativi del sonno rendono questo parametro uno strumento supplementare per migliorare la nostra conoscenza sui meccanismi patofisiologici sottostanti l'insonnia e l'efficacia terapeutica di trattamenti ipnotici.

### *Apnee ostruttive del sonno*

Per apnee ostruttive del sonno (obstructive sleep apnea syndrome, OSAS) si intende un disturbo caratterizzato da un ricorrente collasso della vie aeree superiori che producono una completa o parziale interruzione del respiro. Negli adulti molto spesso questi eventi

respiratori terminano con dei veri e propri arousal, altre volte con dei cambiamenti EEG che non possono essere fatti rientrare nelle regole di scoring degli arousal. Va ricordato che l'ASDA definisce gli arousal come brevi intrusioni di veglia nel sonno, accompagnati da importanti attivazioni delle funzioni cardiache, respiratorie e motorie. Tuttavia, alcune caratteristiche EEG, quali delta burst e complessi K, che non possono essere fatte rientrare nella definizione di arousal, sono spesso associate ad attivazione cerebrale, neurovegetativa e motoria. Inoltre, una caratteristica del sonno dei disturbi respiratori ostruttivi (obstructive sleep disordered breathing, OSDB), uno spettro diagnostico che va dall'apnee alle ipopnee, dalla limitazione di flusso al russamento, è che gli eventi respiratori si ripetono con una periodicità di 20-40 secondi. La medesima periodicità si riscontra nel CAP. I pazienti OSDB hanno un CAP aumentato (>80%) con il manifestarsi delle apnee nella fase B (Terzano et al., 1996). La fase B, infatti, offre un background favorevole al collasso delle vie aeree superiori e abbassa i meccanismi biochimici e neurali nel controllo del drive respiratorio. Nel sonno di pazienti OSDB gli eventi respiratori si concentrano massimamente durante il CAP (96%) e dominano le componenti A2 e A3. Gli eventi respiratori patologici, come le apnee e le ipopnee aumentano il CAP, una condizione di relativa instabilità del

sonno, il CAP a sua volta facilita fluttazioni nel controllo delle vie aeree superiori, peggiorando quindi il disturbo respiratorio.

## *Narcolessia*

La narcolessia è un disturbo del sistema nervoso centrale caratterizzato da alterazioni del ritmo sonno/veglia espresse da diverse manifestazioni cliniche, quali eccessiva sonnolenza diurna con improcrastinabile bisogno di dormire e manifestazioni atipiche del REM (quali cataplessia, paralisi da sonno, allucinazioni ipnagogiche, episodi di inizio del sonno in REM, detti SOREMPs) che si palesano sia durante il sonno notturno che durante il test di latenze multiple di addormentamento (multiple sleep latency test, MSLT). Per la narcolessia è stato suggerito un meccanismo autoimmune, sulla base della forte associazione con l'antigene HLA-DQB1\*0602 (Mignot et al., 1995). E' stata, inoltre, recentemente scoperta una mutazione del tipo 2 del recettore ipocretina/orexina nel modello animale della narcolessia (nel cane) (Lin et al., 1999). Nel modello animale la deficienza ipocretina/orexina spiega le alterazioni del sonno REM, i periodi di inizio del sonno in REM (sleep onset REM periods, SOREMPs) e la cataplessia. Il sonno notturno dei narcolettici è interrotto svariate volte da risvegli, ma il loro sonno sembra soprattutto caratterizzato da alterazioni nella durata dei singoli periodi di sonno. I criteri diagnostici della narcolessia vengono forniti dall'International Classification of Sleep Disorders-2, dove si legge che

la diagnosi di narcolessia con o senza cataplessia può essere fatta laddove coesistano riscontri clinici come eccessiva sonnolenza diurna e almeno uno dei seguenti segni PSG: latenza di sonno <10 minuti; latenza REM <15 minuti; o nell'MSLT del giorno seguente: media della latenza di sonno <5 minuti; due o più SOREMPs durante i sonnellini diurni previsti dal test. In un lavoro di Ferri (Ferri et al., 2005) è stato studiato il sonno di pazienti narcolettici con cataplessia, valutando sia i parametri convenzionali di sonno che la microstruttura. In particolare, nei soggetti HLA-DQB1\*0602 positivi si riscontra una ridotta latenza REM e una ridotta efficienza di sonno, una aumentata veglia intrasonno (wakefulness after sleep onset, WASO) e un aumento dello S1 (Hong et al., 2000), rispetto ai narcolettici HLA-DQB1\*0602 negativi. Per quanto riguarda il CAP, è emerso un ridotto CAP nei pazienti narcolettici HLA-DQB1\*0602 positivi e una riduzione della percentuale delle A1. Sarebbe interessante valutare quest'ultimo dato alla luce della recente ipotesi del downscaling sinaptico. Infatti in pazienti narcolettici è frequente il riscontro di deficit nell'attenzione e nella memoria, dovuti presumibilmente alle alterazioni nel *processing* cognitivo sia attentivo che preattentivo con un alterato funzionamento della corteccia prefrontale in questi pazienti (Naumann et al., 2001). Le componenti lente del CAP, le A1, sono

principalmente localizzate a livello delle regioni anteriori e probabilmente generate dalla corteccia frontale mediana (Ferri et al., 2005). Questi dati portano ad ipotizzare che l'alterata microstruttura in possa giocare un ruolo diretto nelle alterazioni psicofisiologiche di questi pazienti in cui non solo sono alterate le capacità funzionali diurne ma anche le capacità attentive (Hood and Bruck., 1996; Rieger et al., 2003; Schulz and Wilde-Frenz, 1995).

L'orexina sembra interessi proiezioni non specifiche talamo-corticali, senza avere effetto sui neuroni talamici sensoriali. L'orexina potrebbe agire nel talamo avendo la funzione di promuovere la veglia eccitando i neuroni del sistema di proiezione non specifico talamo-corticale che stimola e mantiene l'attivazione corticale attraverso ampie proiezioni alla corteccia cerebrale (Bayer et al., 2002). Inoltre, si è visto che l'orexina, nella corteccia, eccita neuroni che potrebbero anche essere implicati nel promuovere l'attivazione attraverso proiezioni cortico-corticali. Da un punto di vista microstrutturale, le A1 (burst di attività ad onde lente) del CAP sono considerate eventi di attivazione corticale, accompagnate da cambiamenti autonomici sottocorticali (Ferini-Strambi et al., 2000; Ferri et al., 2000; Sforza et al., 2000). Nella narcolessia la deficienza di orexina potrebbe riflettere una ridotta attività delle regioni di arousal corticale, avendo quindi come risultato

un ridotto CAP rate. Un dato particolarmente interessante è che nella narcolessia le A1 non solo sono ridotte nel numero ma sono anche significativamente diverse dal normale per l'alto contenuto di frequenze rapide. La chiara intrusione di frequenze rapide nel CAP e non-CAP potrebbe indicare che in questi pazienti persistano nel NREM meccanismi neurofisiologici tipici del sonno REM. Si possono distinguere tre diversi tipi di oscillazioni delta: 1) molto lente (<1 Hz) con origine corticale; 2) oscillazioni talamiche clock-like (1-4 Hz) 3) oscillazioni corticali (1-4 Hz). Si ritiene che le onde delta molto lente agiscano da trigger per le altre due e raggruppino le due oscillazioni delta e gli spindles e le attività beta (Mölle et al., 2002). Recentemente è stato mostrato come il CAP potrebbe corrispondere ad un periodo in cui il ritmo delta molto lento raggruppi un range di diverse attività EEG che comprendono onde lente, ritmi sigma e beta, mentre la fase B del CAP corrisponderebbe ad un periodo in cui queste attività sono quiescenti o inibite (Ferri et al., 2005). Nei soggetti narcolettici questo meccanismo potrebbe essere alterato e le oscillazioni lente potrebbero essere meno efficaci del normale, essendo meno capaci di raggruppare le altre attività EEG più rapide.

Si è visto come l'analisi ad 1 Hz delle A1 del CAP abbia evidenziato che i probabili generatori corticali siano localizzati nelle regioni

prefrontale e frontale, nelle quali normalmente si trova un aumento dell'attività ad onde lente nel NREM. La corteccia frontale rappresenta circa il 30% della corteccia cerebrale e durante la veglia è una delle aree più attive da un punto di vista metabolico (Maquet et al., 1990; Nofzinger et al., 2004). Durante il sonno NREM questa stessa regione cerebrale mostra un maggiore bisogno di stadi di sonno profondo con una notevole attività ad onde lente e una marcata riduzione del flusso cerebrale (Halasz et al., 2004; Braun et al., 1997; Ferrara et al., 2002). E' stata dimostrata la correlazione tra il ridotto metabolismo delle regioni prefrontali e le attività elettrocorticali  $<1$  Hz. Infatti queste onde originano nelle regioni prefrontali orbitofrontali, si propagano come *travelling waves* nelle altre regioni frontali (Massimini et al., 2003) e sono connesse al ripristino della condizione di veglia attraverso il downscaling del peso sinaptico (Tononi e Cirelli, 2003).

Il sistema ipocretina/orexina è implicato nelle vie di arousal talamocorticali che proiettano alla corteccia prefrontale, determinando un miglioramento nei compiti di attenzione. Nei pazienti narcolettici è stata descritta una significativa perdita della sostanza grigia nella corteccia prefrontale destra e frontomesiale. La riduzione della sostanza grigia potrebbe indicare un pattern di atrofia associato alla malattia dovuto all'alterazione della produzione di ipocretina/orexina.

Questo corpus di dati porta a pensare che il basso ammontare di A1 potrebbe rendere conto delle difficoltà o disfunzioni neuropsicologiche nei pazienti narcolettici, quali deficit cognitivi e problemi attentivi.

## **Riscontri clinici del CAP nel bambino**

Come nel caso del sonno dell'adulto anche il sonno del bambino è stato scandagliato in tutte le sue caratteristiche, principalmente da un punto di vista della macrostruttura, ma recentemente anche attraverso l'analisi del CAP. Sono svariate le patologie studiate anche attraverso la lente della microstruttura: sindrome di Down, sindrome dell'X fragile, sleep terrors, sindrome di Asperger, disturbo dello spettro autistico, disturbi respiratori in sonno, russamento cronico, disturbo da deficit di attenzione/iperattività (attention-deficit hyperactivity disorder, ADHD), sonnambulismo, prematurità. Non essendo questa la sede per una valutazione di tutte le patologie del bambino studiate da un punto di vista microstrutturale ne saranno prese in considerazione solo alcune di esse.

## *Sindrome di Asperger*

La sindrome di Asperger (Asperger syndrome, AS) e l'autismo ad alto funzionamento (high functioning autism, HFA) sono disturbi pervasivi dello sviluppo caratterizzati da deficit sociali, comportamenti, interessi e attività rigidi e ritualistici, difficoltà comunicative, quest'ultimo dato vale soprattutto per l'HFA. La sindrome di Asperger differisce dall'autismo ad alto funzionamento per la mancanza di significativi segni clinici di ritardo cognitivo o nel linguaggio. Vari studi hanno evidenziato come siano ampiamente diffusi i disturbi del sonno di bambini e adulti con disturbi pervasivi dello sviluppo, ad esempio sindrome di Asperger, autismo ad alto funzionamento e autismo a basso funzionamento (low-functioning autism, LFA). In particolare, i bambini con LFA mostrano un maggior numero di disturbi, quali difficoltà di addormentamento, sonno inquieto, frequenti risvegli e ridotto tempo totale di sonno per notte (Richdale et al., 1995; Richdale et al., 2001). Studi con questionari e attigrafo hanno mostrato che soggetti con AS o HFA hanno una maggiore incidenza di insonnia e sonnolenza diurna (Richdale et al., 1995; Patzold et al., 1998; Paavonen et al., 2003; Tani et al., 2003; Oyane et al., 2005). Tuttavia pochi studi sono stati volti alla valutazione del sonno di soggetti adulti sani con AS, e ancora meno in bambini con AS (Tani et al., 2004;

Godbout et al., 2000). In particolare Godbout e collaboratori hanno riscontrato una diminuzione del tempo di sonno nei primi due terzi della notte, un aumento del numero di passaggi al REM da epoche di veglia, aumento dei complessi K nello stadio 2. Tani (Tani et al., 2004), in uno studio su 20 giovani adulti con AS, ha trovato una diminuzione non significativa della potenza delta nel sonno ad onde lente dei soggetti con AS. Bruni e collaboratori (Bruni et al., 2007) hanno condotto uno studio su bambini con AS e con autismo per analizzare il sonno dei bambini attraverso questionari standard di sonno e attraverso la valutazione dell'architettura del sonno e della microstruttura. Il campione era composto da 8 soggetti con AS e 10 soggetti con autismo più 12 bambini normali di controllo. I genitori di tutti i bambini partecipanti allo studio hanno compilato un questionario sulle caratteristiche del sonno dei loro figli. Si tratta di un questionario di 45 items con scala di tipo Likert con valori da 1 a 5 (dove ad 1 corrisponde "mai" e a 5 corrisponde "sempre"). Il questionario misura le differenze individuali in diverse aree del sonno (ad esempio difficoltà ad iniziare o a mantenere il sonno, disturbi nel passaggio sonno-veglia, sonnambulismo, altre parasonnie, problemi del respiro durante il sonno, eccessiva sonnolenza diurna e sintomi al mattino). Questo questionario si riferisce agli ultimi 6 mesi di vita del

bambino. Tutti i bambini AS dello studio sono stati sottoposti anche alla Autism Diagnostic Observation Schedule (ADOS) per validare la diagnosi. Si tratta di uno strumento di valutazione semistrutturato che indaga le capacità comunicative, le interazioni sociali e il gioco, pensato per soggetti con possibile spettro autistico. I bambini sono stati inoltre sottoposti alla Child Behavior Checklist (CBCL), una scala per la valutazione psicopatologica e le competenze sociali dei bambini. Questa scala, infatti, valuta problemi come deficit di attenzione/iperattività, problemi sociali, comportamento aggressivo ecc. Infine per stimare il quoziente intellettivo (IQ) dei partecipanti allo studio è stata usata la Wechsler Intelligence Scale for Children, terza edizione rivista (WISC-III), che consiste in test standardizzati, somministrabili individualmente che valutano tre misure di intelligenza: QI verbale, QI di performance e una full scale (verbale + performance). Nei soggetti normali il punteggio medio è 100. I bambini che hanno preso parte allo studio sono stati sottoposti ad una notte di registrazione polisonnografica. Il sonno è stato analizzato sia macro- che microstrutturalmente. Lo studio di Bruni conferma, attraverso i dati ottenuti dal questionario del sonno, i risultati di precedenti lavori: in bambini con SA, vi sono maggiori difficoltà di addormentamento (ma non di mantenimento del sonno) e un sonno

inquieto con una elevata sonnolenza diurna. Non è stata riscontrata una maggiore prevalenza di parasonnie e disturbi del respiro, come trovato da Liu (Liu et al., 2006). L'elevata sonnolenza diurna, nella popolazione di pazienti del lavoro di Bruni, non può essere fatta ricondurre alla presenza di PLM o ad alterazioni della macrostruttura, ma probabilmente ad una scarsa durata del sonno o a difficoltà di addormentamento o ad instabilità del sonno NREM, come dimostrato dalle alterazioni del CAP. Sono stati proprio i parametri del CAP a mostrare le maggiori differenze tra i tre gruppi. I soggetti AS mostrano un aumento del CAP rate in SWS e un aumento delle A1 index e della percentuale di A1, rispetto ai bambini con autismo, ma hanno un CAP rate simile a quello dei controlli e, sempre rispetto a questi ultimi, una aumentata percentuale di A1. Si potrebbe spiegare questo dato con una maggiore attività ad onde lente durante sonno in questi pazienti. Se si valuta questo dato alla luce di quanto presente in letteratura si nota che tra i pochi studi sulla microstruttura del sonno di bambini con AS è stata trovata una significativa riduzione della densità degli spindle e un aumento dei complessi K durante lo S2 (Godbout et al., 2000). Gli spindles sono associati a meccanismi di protezione del sonno e sono considerati come microstati che favoriscono l'uscita di input sensoriali attraverso la corteccia e inibiscono le oscillazioni lente

e gli arousal. Inoltre va ricordato che l'analisi spettrale ha mostrato una relazione reciproca tra banda sigma e banda delta: l'attività sigma va in direzione opposta, attraverso susseguenti cicli di sonno, rispetto all'attività delta, nel sonno NREM. E' stata dunque sottolineata la relazione tra l'organizzazione dinamica del CAP e quella degli spindle: la fase B del CAP sembra corrispondere al periodo di inibizione dell'attività sigma (Ferri et al., 2000; Ferri et al., 2005). Nello studio di Bruni un altro importante risultato è stata la correlazione tra componenti A1 del CAP e misure cognitive: il QI verbale correla con il CAP rate nello SWS e con l'A1 nello SWS e nello S2. La percentuale di A2 correla negativamente con tutte e tre le misure (QI verbale, di performance e totale). Si può quindi dire che i bambini con AS sono eccezionalmente abili in una o più aree, probabilmente per superiori abilità mnestiche in specifici campi. Questi dati si legano alle numerose evidenze del fatto che il sonno contribuisce al consolidamento delle nuove memorie, in particolare le oscillazioni lente (<1 Hz) che derivano dalla neocorteccia prefrontale e caratterizzano il sonno ad onde lente.

### *Lo spettro autistico*

I disturbi del sonno sono un riscontro frequente in casi di disabilità intellettive. Genitori di bambini con spettro autistico (autistic spectrum disorder, ASD) spesso riportano che i loro figli mostrano difficoltà di addormentamento, sonno inquieto, frequenti risvegli e un ridotto tempo di sonno. Allo scopo di classificare meglio l'architettura del sonno nell'autismo, sono stati definiti tre pattern di sonno: 1) immaturità del sonno con una disturbata architettura; 2) alterazioni funzionali del sonno con risveglio precoce al mattino e bedtime resistance; 3) alterazioni parossistiche con scariche epilettiformi. In uno studio di Miano e collaboratori (Miano et al., 2007) è stato valutato il sonno di 31 bambini con spettro autistico tramite questionario, l'analisi della macro e della microstruttura. L'analisi dei questionari sembra confermare, come riportato in altri studi, la percezione da parte dei genitori di un sonno frammentato, ma i dati polisomnografici non rispecchiano del tutto questa percezione. Infatti vi è in questi soggetti un ridotto total sleep time ma una normale latenza di addormentamento. I dati PSG mettono in rilievo solo poche differenze tra il sonno di bambini ASD e bambini normali, per lo più a carico del TST (total sleep time, il tempo dall'inizio del sonno alla fine dell'ultima epoca di sonno meno il tempo trascorso in veglia), TIB

(time in bed) e SPT (sleep period time, vale a dire il tempo dall'inizio del sonno alla fine del sonno), nel senso di una riduzione di questi parametri. Elia (Elia et al., 2000) rileva che la riduzione di questi valori potrebbe essere una conseguenza della disfunzione delle vie aminergiche (dopaminergiche e serotoninergiche) del tronco cerebrale, già dimostrata nella ASD. L'analisi del CAP ha mostrato che in questi soggetti vi sia rispetto ai controlli un più basso CAP rate durante SWS, un più basso A1 index durante SWS e un aumento delle A2 e A3 durante sonno superficiale. In particolare, questo ultimo dato sembrerebbe controbilanciare la riduzione di A1 nello SWS e questo spiegherebbe perché il CAP rate non mostra differenze nei due gruppi. E' stata indicata recentemente l'importanza dell'attività ad onde lente durante sonno NREM come componente del downscaling sinaptico, probabilmente implicato nel processing cognitivo. Le A1 del CAP sono le componenti più importanti e le regioni frontali e le vie transcallosali che interconnettono queste regioni. giocano un ruolo fondamentale nella generazione di queste onde. Il fatto che vi sia una significativa riduzione delle A1 in bambini con spettro autistico porta a pensare ad una possibile disfunzione di queste aree, con un conseguente danno nel funzionamento cognitivo di questi soggetti. Questa interpretazione sembra rafforzata da riscontri neurofisiologici

che mostrano che pazienti autistici presentano disfunzione del lobo frontale (Ferri, 2003; Townsend, 2001).

### *La sindrome di Down e la sindrome dell'X Fragile*

Le due delle sindromi che spesso sia associano a ritardo mentale più studiate nelle loro caratteristiche polisonnografiche sono state la sindrome di Down (Down syndrome, DS) e la sindrome del cromosoma X Fragile (Fragile-X syndrome, fra-X) (Lindblom, 2001). I primi studi si sono concentrati sull'ammontare di sonno REM: l'autismo e la sindrome di Down mostrano meno REM rispetto alla sindrome dell'X fragile, a parità di livello di ritardo mentale (Diomedes et al., 1999; Elia et al., 2000). Alcuni tra i primi lavori (Levanon, 1999) hanno dimostrato che bambini con DS presentano, rispetto ai controlli, poche anomalie nell'architettura del sonno, ad esempio sonno frammentato, risvegli frequenti e arousal. Questi stessi studi riportano il dato secondo cui la sindrome di Down solo parzialmente si associa a sindrome delle apnee ostruttive. Al contrario, altri studi (Marcus et al., 1991; Andreou et al., 2002) mettono in evidenza un'alta frequenza di apnee ostruttive nel sonno di bambini con sindrome di Down. E' stato ipotizzato che questa alta incidenza delle apnee possa giocare un ruolo nei deficit cognitivi dei bambini con sindrome di

Down. Il quadro è diverso per quanto riguarda la sindrome X fragile: in questo caso il sonno mostra un normale pattern respiratorio (Musumeci et al., 1996), senza segni di disfunzioni autonome (Ferri et al., 1999). I dati polisonnografici in bambini con sindrome X fragile evidenziano differenze non specifiche rispetto ai controlli: ridotto tempo totale di sonno e aumentati risvegli dopo l'inizio del sonno. In uno studio di Miano e collaboratori (Miano et al., 2008) sono stati studiati un gruppo di bambini con sindrome di Down e uno con sindrome X fragile, allo scopo di individuare eventuali alterazioni nella microstruttura del loro sonno e capire come queste possano associarsi al ritardo mentale. Da questo studio è emerso che per quanto riguarda l'aspetto macrostrutturale del sonno non vi sono differenze statisticamente significative tra i due gruppi (DS e fraX) nel TST, SPT e nella latenza di addormentamento. Ma i bambini DS mostrano di spendere un tempo più lungo a letto, di avere una più bassa efficienza di sonno, una maggiore percentuale di WASO, una ridotta percentuale di S2 rispetto ai fraX. Entrambi i gruppi rispetto ai controlli mostrano una più elevata percentuale di S1 e, come ci si aspettava, una più bassa percentuale di REM (Diomedes et al., 1999; Elia et al., 2000). E' molto interessante notare che non sono state trovate differenze nella percentuale di SWS nei due gruppi rispetto ai controlli. Da un punto di

vista microstrutturale si è visto che entrambi i gruppi mostrano una riduzione delle A1 e un aumento della A2 e delle A3 rispetto ai controlli. I soggetti fraX mostrano una microstruttura più disturbata: il CAP rate totale e il CAP rate in S2 è più basso rispetto ai DS e ai controlli, mentre il CAP rate in SWS è più basso rispetto ai controlli. Se si valutano le componenti A1 del CAP si vede come i soggetti fraX e DS mostrano rispetto ai controlli una più bassa percentuale di A1 e una più elevata percentuale di A2 e A3. I fraX presentano una percentuale più alta di A3 rispetto ai DS. Se torniamo ai dati del solo gruppo di bambini con fraX, i risultati ottenuti a livello della microstruttura potrebbero rappresentare una diminuzione delle oscillazioni lente EEG durante NREM che sono associate al funzionamento cognitivo (Ferini-Strambi, 2004). Molti studi recenti peraltro mostrano il ruolo diretto del CAP nei processi cognitivi associati al sonno sia in bambini normali (Ferri, 2008), che in bambini con Asperger (Bruni, 2007) che nell'autismo (Miano, 2007). Il dato della riduzione del CAP rate nello S2 in bambini fraX rispetto ai controlli e ai DS è molto simile a quanto riscontrato da Miano (Miano et al., 2006) sul CAP in bambini ADHD. Queste similitudini potrebbero essere legate al danno nelle funzioni esecutive nei fraX simili a quello trovato nei bambini ADHD (Mazzocco et al., 2000).

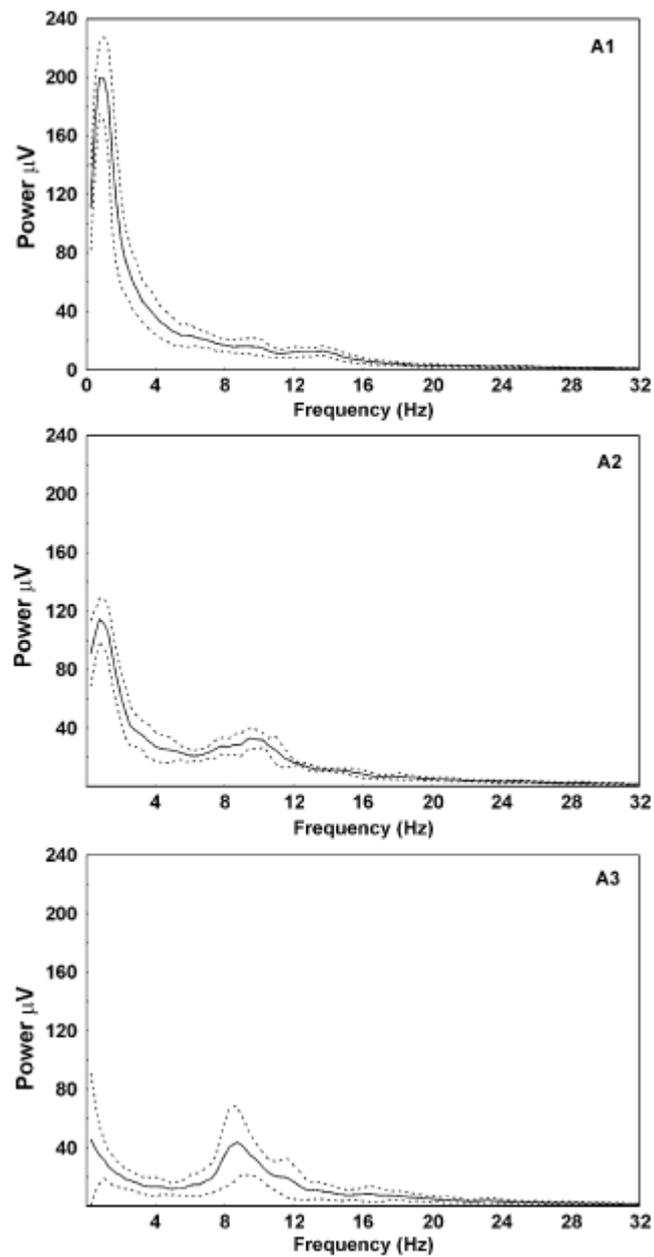
Nel bambini DS è stata trovata solo una riduzione delle A1 e un aumento delle A2 e A3, mentre gli altri parametri del CAP non mostrano differenze rispetto ai controlli. Questo dato potrebbe indicare che nei soggetti presi in esame ci sia un minore danno cognitivo rispetto ai fraX.

L'esame del sonno anche attraverso il CAP può quindi fornire una chiave in più per capire i meccanismi sottostanti l'apprendimento e il consolidamento dei compiti appresi. Rispetto ai primi lavori che focalizzavano l'attenzione solo sul sonno REM va ricordata anche l'importanza del NREM, considerando anche il dato che il primo rappresenta solo il 20% dell'intero sonno, mentre il NREM occupa il 70-75% del sonno.

Anche questi dati sulla sindrome di Down e sulla sindrome dell'X fragile possono essere letti alla luce della teoria del downscaling sinaptico (Tononi Cirelli, 2003). Se consideriamo che le A1 del CAP sono quelle componenti principalmente costituite da onde lente e sono localizzate a livello delle regioni frontali e prefrontali dello scalpo, possiamo ipotizzare che la significativa riduzione delle A1 in questi pazienti sia il risultato di una possibile disfunzione di queste strutture cerebrali e questo possa ripercuotersi in un danno del funzionamento cognitivo in questi bambini.

## **Mapping topografico delle componenti del CAP**

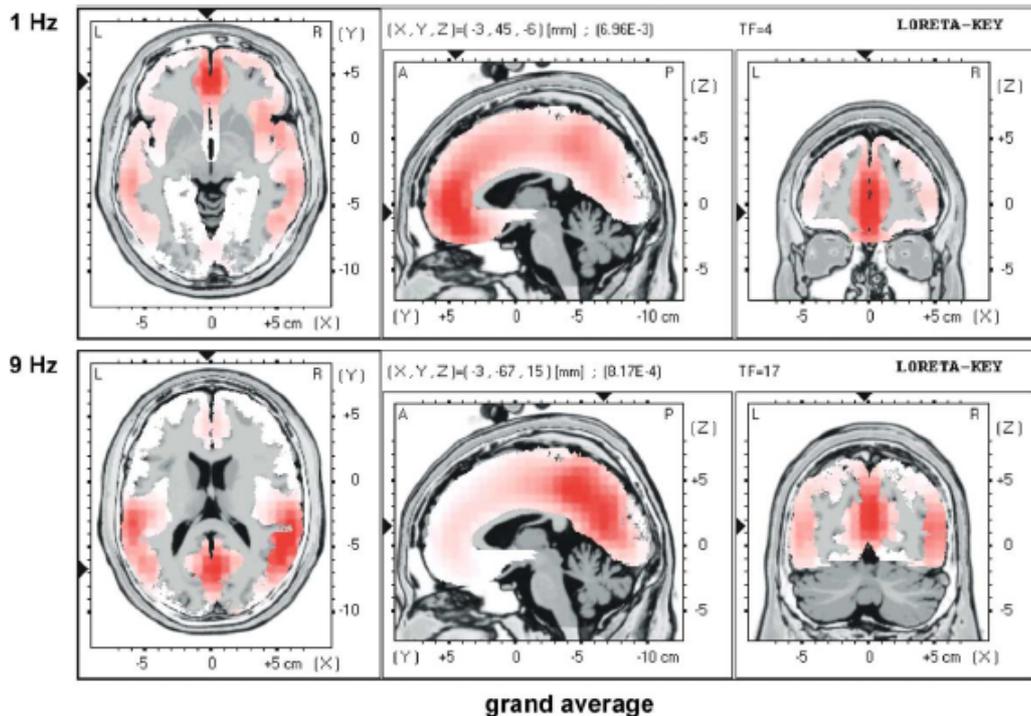
Sono state condotte delle analisi sulle fasi A del CAP in soggetti sani per ottenere un mapping topografico delle stesse, conoscere i loro probabili generatori corticali e le relative vie di interconnessione (Ferri et al., 2005). Dall'analisi spettrale delle componenti del CAP è emerso che lo spettro delle A1 è caratterizzato da un picco nel range delta tra 0.25 e 2.5 Hz. Lo stesso picco è evidente nello spettro delle A2, anche se il picco è meno alto rispetto a quello delle A1. Nello spettro delle A2 vi è un ulteriore picco nel range di frequenze tra 7 e 12 Hz. Per le A3, invece, si ha un picco evidente nella banda alfa, intorno a 9 Hz. La figura 8 mostra questi dati.



*Fig. 8*

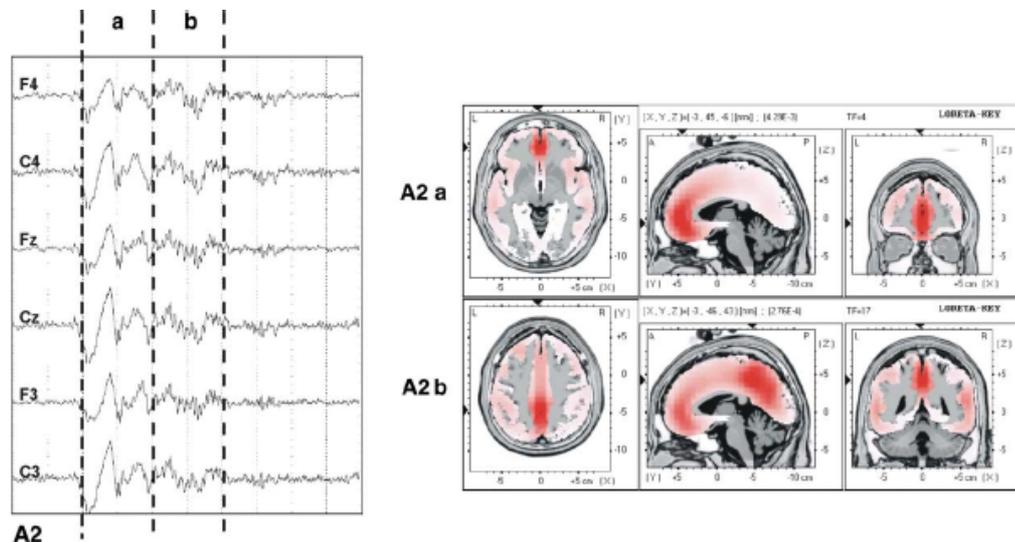
I risultati del mapping topografico dello scalpo di queste due bande di frequenza hanno mostrato che per la prima, a bassa frequenza, (0.25-2.5 Hz) si ha una netta prevalenza sulle regioni anteriori frontali,

principalmente sulla linea mediana con una diffusione simmetrica sui due emisferi. La banda ad alta frequenza (7-12 Hz) interessa maggiormente le aree parieto-occipitali, anche in questo caso si ha una distribuzione simmetrica con un picco sulla linea mediana. L'analisi ad 1 Hz, rappresentativa dei probabili generatori corticali delle componenti a bassa frequenza del CAP, ha indicato che questi generatori sembrano essere localizzati sulla corteccia frontale. L'analisi a 9 Hz, rappresentativa dei probabili generatori corticali delle componenti ad alta frequenza del CAP, invece, mostra un interessamento delle aree parietale ed occipitale sia sulla linea mediana che nei due emisferi.



*Fig. 9*

L'analisi delle A2, risultando dall'associazione tra le componenti lente (tipiche delle A1) e quelle rapide (tipiche delle A3) del CAP, ha messo in evidenza che nella loro parte iniziale i probabili generatori corticali non sono distinguibili da quelli delle componenti a bassa frequenza (caratteristici delle A1), mentre nella loro ultima parte i probabili generatori corticali non sono distinguibili da quelli delle componenti ad alta frequenza (caratteristici delle A3).



**Fig. 10**

Si ritiene che i meccanismi della sincronizzazione durante sonno NREM avvengano attraverso vie talamo-corticali. Le componenti lente del CAP possono essere considerate come espressione corticale di questa interazione corticale-sottocorticale. Le componenti ad elevata frequenza, invece, sembrano essere espressione di attività localizzata allo stesso livello delle strutture che si pensa generino le onde alfa durante la veglia, nella corteccia

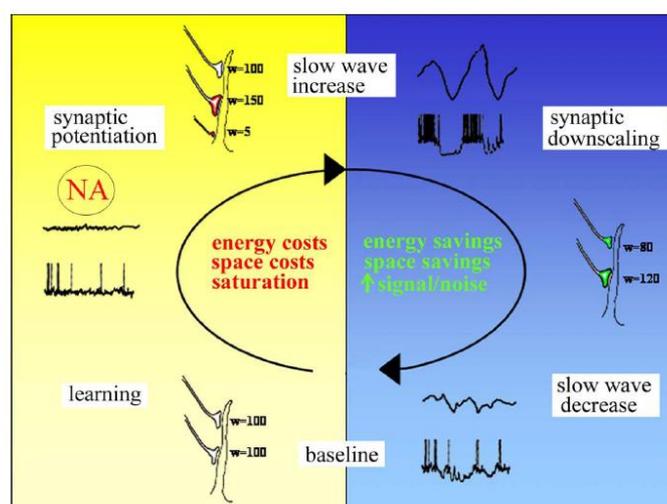
cerebrale, a livello dei neuroni del IV e V strato. L'associazione chiaramente non casuale tra le due diverse frequenze del CAP, i cui generatori sono localizzati in strutture completamente differenti, sembra indicare che queste strutture potrebbero essere in un rapporto di interconnessione funzionale, permettendo loro di organizzare il presentarsi delle componenti a diversa frequenza del CAP in un modo coordinato.

Il fascicolo longitudinale superiore (arcuato) è il più largo fascio di fibre, questo assieme ai fascicoli uncinato e fronto-occipitale, forma un sistema di fibre longitudinale che unisce ciascun lobo frontale con il suo emisfero. Questi importanti fasci di fibre potrebbero avere un ruolo cruciale nell'integrare l'attività dei generatori frontali e di quelli parieto-occipitali del CAP. Attraverso questi fasci nervosi i segnali possono essere trasferiti dai lobi frontali alle aree parietali ed occipitali (e viceversa) in pochi millesimi di secondo (15 ms o meno). Questo spiegherebbe la probabile reciproca inibizione durante le fasi A1 e A3 del CAP, che potrebbe essere così veloce che solo una componente del CAP è evidente sullo scalpo.

## Teoria dell'omeostasi sinaptica

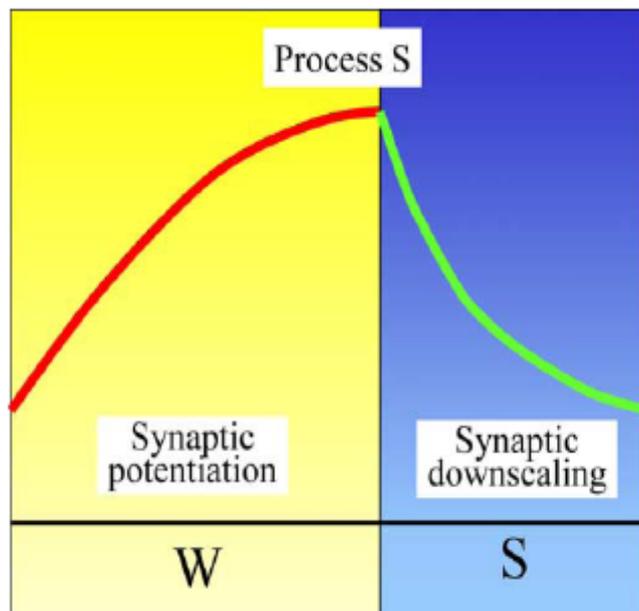
Recentemente è stato ipotizzato che l'attività ad onde lente durante sonno sia associata a downscaling sinaptico (Tononi e Cirelli, 2003). Questa ipotesi afferma che il sonno gioca un ruolo fondamentale nella regolazione del peso sinaptico del cervello. L'ipotesi del downscaling sinaptico si basa su 4 punti:

- La veglia si associa al potenziamento sinaptico in diversi circuiti corticali
- Il potenziamento sinaptico si associa alla regolazione omeostatica dell'attività ad onde lente
- L'attività ad onde lente è legata al downscaling sinaptico
- Il downscaling sinaptico si lega a benefici effetti del sonno sulle funzioni neurali e quindi indirettamente sulla performance.



*Fig 11*

Uno dei modelli presi in esame per spiegare la regolazione del sonno è stato il modello del processo S, la componente omeostatica che si accumula esponenzialmente durante la veglia per scaricarsi poi durante il sonno (Fig. 12). Il processo S descrive bene l'andamento dell'omeostasi sinaptica: l'ammontare del peso sinaptico nella corteccia cerebrale cambia in funzione della veglia e del sonno: aumenta durante la veglia, raggiungendo il massimo proprio prima dell'inizio del sonno per poi diminuire e raggiungere un livello di base alla fine del sonno.



**Fig. 12**

Durante la veglia interagiamo con l'ambiente ad acquisiamo informazioni su di esso. Questo avviene ampiamente anche grazie ad un meccanismo detto long-term potentiation che risulta in un netto aumento della forza sinaptica. Questa plasticità, garantita dall'aumento del peso sinaptico, ha però un

costo, sia in termini di energia che di spazio e satura la nostra capacità di apprendere. Così, quando inizia il nostro sonno e ci disconnettiamo virtualmente dall'ambiente avvengono dei cambiamenti che si riflettono nell'EEG sotto forma di onde lente. Il ruolo che l'attività ad onde lente gioca è anche quello di determinare un downscaling su ogni neurone, abbassando in questo modo la forza di tutti i neuroni. Per downscaling sinaptico si intende una riduzione proporzionale nella forza di tutte le sinapsi che convergono sullo stesso neurone. In questo modo si ha un beneficio in termini di richiesta di spazio ed energia, di apprendimento e memoria. Infatti, quando ci svegliamo i circuiti neurali preservano una traccia delle precedenti esperienze ma sono anche efficienti nel ricalibrare la forza sinaptica e il ciclo può ricominciare. Il downscaling sembrerebbe determinare un beneficio sull'apprendimento aumentando il rapporto segnale-rumore in circuiti cerebrali rilevanti. Per capire meglio questo concetto possiamo rifarci a studi su apprendimento visuomotorio. Studi PET dimostrano come durante apprendimento visuomotorio ci sia una attivazione cerebrale dapprima diffusa e bilaterale e solo secondariamente, con la pratica, vi è una convergenza su foci di attivazione corticale più ristretti. Dal momento che i circuiti locali non hanno modo di sapere quali sinapsi o neuroni hanno contribuito o no a correggere i movimenti verranno potenziate sia le sinapsi che hanno contribuito a correggere

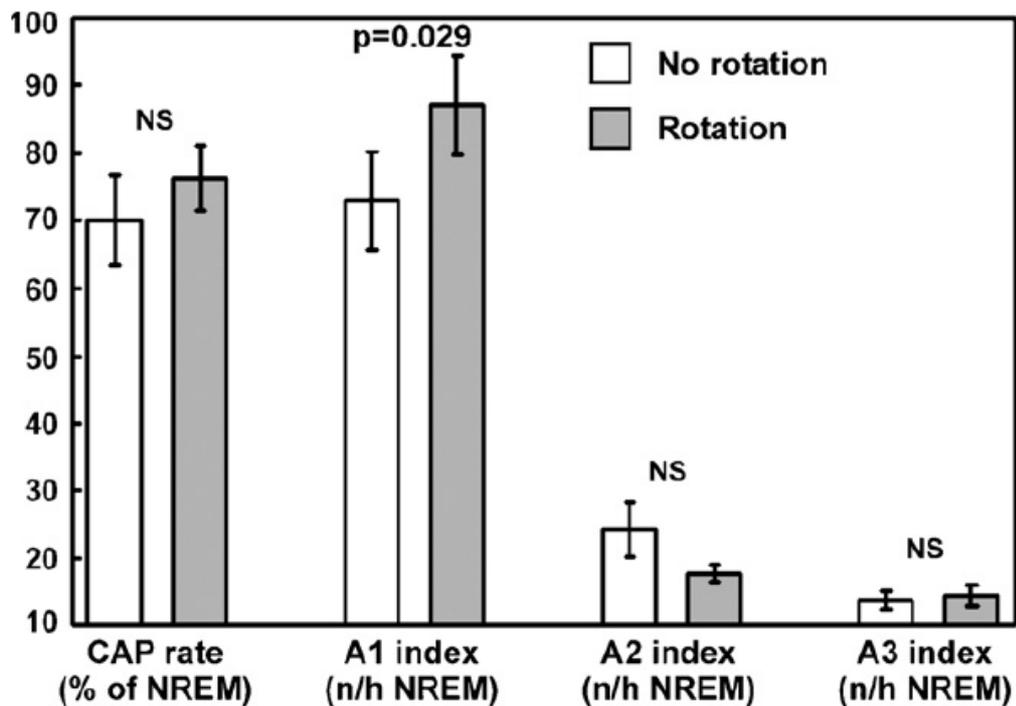
progressivamente il movimento (nei vari tentativi della pratica che porta all'apprendimento visomotorio) (segnale), sia quelle che hanno contribuito ai movimenti erronei o inefficaci (rumore). Vi è, però, una soglia sotto la quale le sinapsi che contribuiscono al rumore, essendo in media più deboli di quelle che contribuiscono al segnale, diventano inefficaci o silenti e cessano di interferire, aumenta in questo modo il rapporto segnale rumore. In questo filone teorico si inserisce il lavoro di Huber (Huber et al., 2004) sull'aumento locale di attività ad onde lente dopo apprendimento di un compito visuo-motorio. In questo studio è stato chiesto ai soggetti di eseguire un compito visuo-motorio proprio prima di andare a letto. Il compito consisteva nella ricerca visiva di un target su un monitor usando un cursore precedentemente ruotato di un angolo fisso in senso antiorario rispetto alla posizione della mano. I soggetti non vedevano né la loro mano né il braccio. La scelta di questo compito risiede nel fatto che rappresenta un compito di apprendimento implicito, è infatti adatto a sessioni estese e permette un' accurata parametrizzazione sia della riduzione del rumore che del miglioramento della performance. La condizione in cui il cursore è stato precedentemente ruotato è stata chiamata condizione "rotation". Come condizione di controllo i soggetti sono stati sottoposti una settimana prima o dopo ad un compito soggettivamente indistinguibile e che aveva le stesse condizioni cinematiche ma in cui il cursore non era stato ruotato. Dopo il

compito è stato registrato il sonno dei soggetti con un sistema a 256 canali. La cuffia è stata tolta dopo due ore e ai soggetti è stato permesso di continuare a dormire. È stato trovato che l'aumento della SWA era prevalente soprattutto sulle regioni anteriori e non vi era differenza tra la condizione "rotation" rispetto alla condizione "non rotation". Confrontando, però, le due condizioni emerge che solo la condizione "rotation" aveva prodotto un aumento locale della SWA in un gruppo di 6 elettrodi parietali destri che comprendono le aree 40 e 7 di Brodmann. Queste aree ricevono input visivi e propriocettivi e sono coinvolte nel *processing* delle informazioni sensoriali rilevanti per l'attenzione spaziale. In particolare l'area 7 è una stazione delle vie dorsali visive ed è interessata negli aspetti spaziali della visione, è un punto di convergenza tra la visione e la propriocezione allo scopo di determinare dove sono gli oggetti in relazione alle parti del corpo. Gli autori si sono chiesti se il miglioramento della performance fosse dovuto specificatamente al sonno o non fosse attribuibile ad altri fattori come il mero passaggio del tempo o a fattori circadiani. Per valutare questo aspetto hanno selezionato due gruppi di soggetti: uno sottoposto al compito la sera, poi lasciato libero di dormire per 7-8 ore e ritestato la mattina successiva (gruppo "sleep"); il secondo gruppo è stato testato la mattina, lasciato libero di svolgere le normali attività quotidiane e ritestato dopo 8 ore. Si è visto che il gruppo "sleep" ha

una prestazione decisamente più alta rispetto a quella dell'altro gruppo. Huber e collaboratori trovano che la diminuzione nell'errore direzionale è positivamente correlata con l'aumento dell'attività ad onde lente. Questo significa che all'aumentare dell'attività ad onde lente migliora la performance. Quindi l'induzione locale di attività ad onde lente è avviata da un compito di apprendimento, il che suggerisce che cambiamenti locali plastici associati all'apprendimento possano essere direttamente o indirettamente implicati. Certamente si può affermare che l'aumento locale di attività ad onde lente è fortemente correlata con il miglioramento della performance dopo sonno. Per cui l'omeostasi dell'attività ad onde lente potrebbe essere associata a processi cellulari sottostanti l'apprendimento piuttosto che a fatica o deplezione metabolica. Le oscillazioni lente potrebbero aiutare il consolidamento sinaptico o produrre un downscaling sinaptico ed aumentare il rapporto segnale-rumore in rilevanti circuiti neurali.

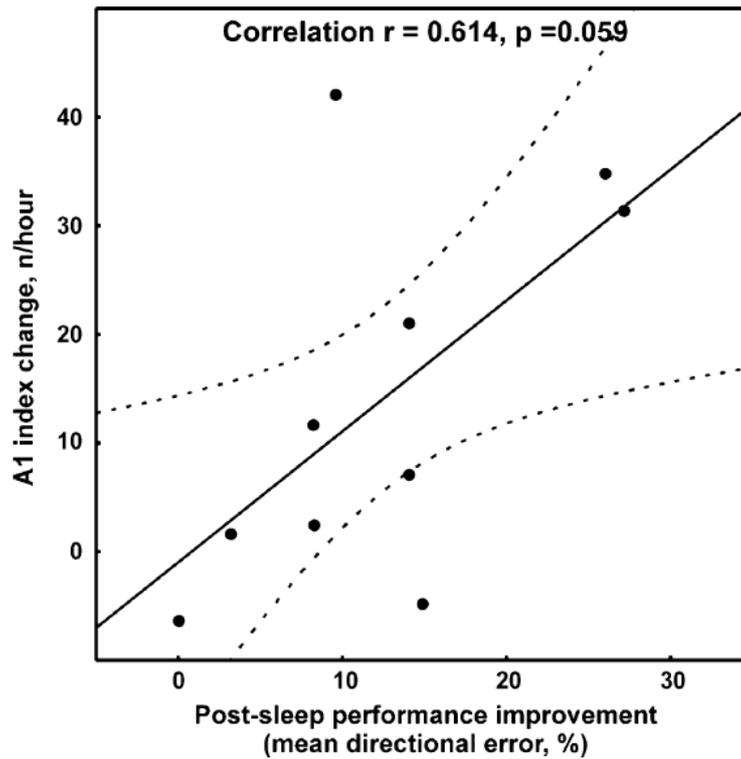
I dati di 10 degli stessi soggetti di Huber sono stati ripresi da Ferri et al. (2008), prendendo in considerazione solo la prima ora di sonno, dal momento che dall'esame della letteratura è emerso che è questo il periodo che mostra i maggiori cambiamenti nella attività ad onde lente. E' stata valutata la macrostruttura del sonno e non sono emerse differenze statisticamente significative tra le due condizioni, né per quanto riguarda

l'efficienza del sonno né per i singoli stadi. E' l'aspetto microstrutturale a fornire i dati più interessanti: nella condizione "rotation" vi è un aumento statisticamente significativo delle A1 index (numero di A1 per ora di sonno NREM) rispetto alla condizione "non-rotation". Questo dato è accompagnato da un aumento non statisticamente significativo del CAP rate nella condizione "rotation" e da una riduzione non statisticamente significativa delle A2 index.



*Fig. 13*

Da questo studio è emerso, inoltre, che vi è una correlazione che rasenta la significatività statistica tra i cambiamenti dell'A1 index e il miglioramento dopo sonno della prestazione, correlazione che è positiva.



*Fig. 14*

Anche questo lavoro sembrerebbe confermare l'ipotesi che le componenti del CAP caratterizzate da attività ad onde lente vengano modificate da un compito di apprendimento eseguito il giorno che precede il sonno. I dati sembrano inoltre confermare che queste stesse componenti possano giocare un ruolo nei processi cognitivi associati a sonno che favoriscono il miglioramento della performance dopo apprendimento.

## LO STUDIO

### Introduzione

Recentemente è stata proposta l'ipotesi dell'omeostasi sinaptica, che sottolinea i benefici effetti che il sonno avrebbe sul funzionamento neurale e, indirettamente, sulla performance. Questa teoria, già precedentemente illustrata, suggerisce che l'ammontare della forza sinaptica nella corteccia cerebrale sia in funzione della veglia e del sonno, e che abbia dunque una regolazione omeostatica, aumentando durante la veglia, raggiungendo il livello massimo proprio prima dell'inizio del sonno per poi diminuire ed arrivare ad un livello di baseline alla fine del sonno. Sebbene non si conoscano i processi sottostanti la regolazione omeostatica dell'attività ad onde lente (Slow Wave Activity, SWA), è stato suggerito che queste onde possano riflettere il peso delle sinapsi nei circuiti corticali. Il ruolo giocato dalla SWA sembrerebbe quello di determinare un progressivo downscaling della forza sinaptica e questo porterebbe a benefici effetti sia in termini di funzionamento neurale che di performance. Diversi studi sembrano confermare questa ipotesi. E' stato ricordato come le componenti lente del CAP, le A1, siano principalmente costituite onde lente, in particolare da frequenze nel range 0.5-2.5 Hz. Si è visto inoltre come

queste siano localizzate principalmente sulle aree frontali dello scalpo. Lo scopo di questo studio è stato indagare sostanzialmente due aspetti: valutare la relazione tra CAP rate di soggetti giovani sani e la loro performance ad una serie di test che valutino le funzioni frontali; e secondariamente indagare se esiste, e in che direzione vada, la relazione tra A1 del CAP e prestazione agli stessi test. E' stato ricordato che il CAP rappresenterebbe un indice di instabilità dell'arousal, che fluttua tra una condizione di maggiore attivazione (fase A) e una di minore attivazione (fase B). Questo porta a supporre che elevati livelli di CAP rate, se dovuti all'aumento dei tipi A2 e A3, proprio a causa di questo "eccesso" di arousal nel sonno NREM, comporterebbero un effetto negativo su alcune funzioni cognitive. Per quanto riguarda le componenti A1 del CAP, a fronte di una crescente letteratura sul ruolo della SWA, sembrerebbero, invece, determinare effetti benefici sulle medesime funzioni cognitive.

## Soggetti e Metodi

Per questo studio sono stati arruolati 8 soggetti normali sani (4 maschi e 4 femmine) e la Tabella 1 ne mostra le caratteristiche anagrafiche e fisiologiche principali.

<b>Tabella 1</b>	<b>media±D.S.</b>
<b>Età, anni</b>	27.8±4.31
<b>Scolarità, anni</b>	16.9±2.20
<b>Peso, kg</b>	61.8±8.73
<b>Altezza, cm</b>	168.1±0.63
<b>BMI</b>	21.7±1.72
<b>Epworth sleepiness scale</b>	3.4±1.30
<b>Lateralità</b>	destra = 8, sinistra = 0
<b>Russamento</b>	no = 7, si = 1 (lieve)
<b>Fumo</b>	no = 5, si = 3

Nessuno presentava alcun disturbo fisico, neurologico o psichiatrico, né una storia di problemi di sonno e nessuno stava facendo uso di medicinali al momento della registrazione. I criteri di esclusione sono stati (a) una diagnosi di disordine del sonno (includendo le apnee del sonno); (b) una malattia mentale maggiore; (c) una storia significativa

di difficoltà cognitive (d) l'uso pregresso (superiore ad un anno di distanza) o attuale di agenti attivi sul sistema nervoso centrale, (e) storia di alcool o altre sostanze di abuso.

#### *Polisonnografia notturna*

Dopo una notte di adattamento in una stanza del laboratorio del sonno di “tipo standard” con attenuazione dei suoni (secondo i criteri AASM, *American Academy of Sleep Medicine*), sono state eseguite due polisonnografie notturne consecutive, sotto monitoraggio video.

Ai soggetti non sono state permesse bevande con caffeina il pomeriggio precedente la registrazione, ed è stato concesso loro di dormire sino a che si svegliassero spontaneamente al mattino. Il tempo dello spegnimento delle luci è stato impostato in base alle abitudini individuali di coricarsi, compreso comunque tra le ore 21.30 e le ore 23.30.

I parametri polisonnografici (PSG) presi in considerazione sono stati: EEG (19 canali secondo il sistema internazionale 10-20), elettrooculogramma (EOG) (destro e sinistro), EMG del muscolo miloioideo, ed elettrocardiogramma (ECG) ad una derivazione. I segnali PSG sono stati campionati ad una frequenza di 256 Hz e archiviati nel formato European Data Format (EDF) per analisi successive.

### *Analisi della macrostruttura del sonno*

Le fasi di sonno sono state interpretate secondo i criteri standard per lo scoring del sonno (Rechtschaffen and Kales, 1968) su epoche di 30 secondi utilizzando il software per l'analisi del sonno Hypnolab 1.2 (SWS Soft, Italy).

La macrostruttura del sonno è stata valutata in accordo con i criteri di Rechtschaffen e Kales (Brain Information Service/Brain Research Institute, University of California, Los Angeles, 1968).

I parametri presi in considerazione, per la macrostruttura del sonno, sono stati i seguenti:

- TIB: tempo trascorso a letto, in minuti;
- SPT: tempo di sonno, dall'addormentamento al risveglio finale, in minuti;
- TST: tempo totale di sonno, SPT meno tempo di sonno intermedio, in minuti;
- SOL: latenza di sonno, dall'inizio della registrazione all'addormentamento, in minuti;
- FRL: prima latenza REM, dall'addormentamento all'inizio del primo episodio REM, in minuti;
- SS-h: numero di cambiamenti di stadio dopo l'addormentamento, per ora;

- AWN: numero di risvegli dopo l'addormentamento, per ora;
- SEI: indice di efficienza di sonno, in percentuale ( $(TST/SPT)*100$ );
- WASO: veglia dopo l'addormentamento, in minuti e in percentuale di SPT;
- S1, S2, SWS, REM: stadi di sonno 1, 2, 3+4 (SWS), e REM dopo l'addormentamento, in percentuale di SPT;

#### *Analisi del CAP*

Secondo la definizione dell'AASM (American Academy of Sleep Medicine) un arousal EEG è caratterizzato dalla intrusione di attività di veglia all'interno del sonno. Le attività fasiche lente come i k-complex e i delta burst non rientrano pertanto nella definizione di arousal. Crescenti evidenze neurofisiologiche indicano invece una stretta associazione tra attivazione autonoma (in particolare frequenza cardiaca, pressione arteriosa, attività simpatica muscolare) e onde lente EEG del sonno non-REM. Il potere di attivazione di queste attività lente è comunque minore rispetto a quello degli arousal AASM. Si profila così uno spettro di eventi EEG dotati di proprietà attivanti che si estendono gerarchicamente dalle forme più leggere (k-complex, delta burst) a quelle più potenti (arousal AASM). All'interno del sonno non-REM, questi fenomeni EEG di attivazione compaiono

assemblati in maniera ordinata secondo un periodismo spontaneo di 20-40 secondi. Secondo la terminologia EEG classica, questa modalità di aggregazione è definita cyclic alternating pattern (CAP).

Il CAP è identificato dalla successione di cicli CAP composti da una fase A (componente EEG di attivazione) e da una fase B (l'intervallo che separa 2 fasi A successive). Ogni fase A e ogni fase B ha una durata compresa tra 2 e 60 secondi. La successione di due o più cicli CAP configura la sequenza CAP. L'assenza di CAP per più di 60 secondi configura un tracciato di sonno non-CAP.

Trattandosi di un fenomeno continuo che varia spontaneamente in relazione al livello di sincronizzazione EEG, il CAP può assumere caratteristiche diverse nei singoli stadi. In particolare, le fasi A sono composte da: ritmi alfa intermittenti e sequenze di punte al vertice in stadio 1; grappoli di k-complex seguiti o meno da componenti alfa o beta in stadio 2; delta burst in stadio 3 e in stadio 4; arousal AASM in tutti gli stadi non-REM. Più in generale, in base alla dominanza di sincronizzazione o desincronizzazione EEG, ogni fase A può essere classificata come fase A1 (prevalenza di attività sincrone), fasi A2 (ripartizione bilanciata tra sincronizzazione desincronizzazione EEG), fasi A3 (prevalenza di attività desincronizzate). Il 62% delle fasi A2 e il 95% delle fasi A3 corrispondono agli arousal AASM.

Le fasi A1 del CAP partecipano alla costruzione e al consolidamento del sonno profondo (stadi 3 e 4), mentre le fasi A2 e A3 sono coinvolti nella preparazione del sonno REM attraverso la demolizione della sincronizzazione EEG.

L'identificazione del CAP deve essere sempre preceduta dalla stadiazione del sonno secondo le regole convenzionali. Il CAP rate è il rapporto percentuale tra tempo totale di CAP (durata complessiva di tutte le sequenze CAP) e tempo totale di sonno non-REM. I valori fisiologici di CAP rate variano in base alle fasce d'età secondo un profilo a U (33% nei bambini, 43% negli adolescenti, 32% nei giovani adulti, 37.5% negli adulti di mezza età, 55% negli ultrasessantenni).

Il CAP, marker neurofisiologico di sonno instabile, può essere manipolato da stimolazioni sensoriali, in particolare da perturbazioni acustiche. In generale, il CAP rate aumenta in tutte le situazioni in cui il sonno è disturbato da fattori di disturbo (rumore, dolore, letto scomodo, ansia, depressione, epilessia, apnea, movimenti, sostanze eccitanti). Al contrario, la deprivazione totale di sonno (con recupero nelle ore notturne), l'uso di protesi ventilatorie (nella sindrome della apnee ostruttive) e la somministrazione di farmaci con proprietà ipnotico-sedative (nell'insonnia) determinano una riduzione dei valori di CAP rate. L'applicazione del CAP entra pertanto in numerose

patologie del sonno, sia in quelle che si distinguono per fenomeni periodici di 20-40 secondi (come le apnee morfeiche e il mioclono periodico) sia in quelle associate ad una forte instabilità del livello di vigilanza (come nelle epilessie e nelle insonnie).

Il CAP è stato studiato in molte patologie del sonno, rendendo possibile una classificazione sulla base dell'interpretazione patofisiologica dei disturbi del sonno. E' stato così possibile distinguere patologie della fase A (mioclono periodico, bruxismo, epilessia focale e generalizzata, distonia parossistica notturna), patologie della fase B (apnee morfeiche notturne) e alterazioni del CAP (insonnia, uso e abuso di psicofarmaci, malattia di Creutzfeldt Jacob) Tutte queste patologie sono caratterizzate da alterati valori di CAP rate e degli altri parametri CAP.

I parametri CAP hanno un alto valore predittivo: lo spostamento dai valori fisiologici per fasce di età è indice del tipo e della gravità della patologia.

Sono stati valutati i seguenti parametri CAP:

- CAP\_tot\_num
- CAP\_tot\_nS1
- CAP\_tot\_nS2

- CAP\_tot\_nSWS: Numero totale di fasi A durante l'intera registrazione e per ogni stadio di sonno NREM;
- CAP\_Rate%
- CAP\_Rate%S1
- CAP\_Rate%S2
- CAP\_Rate%SWS: percentuale di tempo del sonno NREM (totale e per ogni stadio), occupata da sequenze CAP;
- CAP\_Time\_Tot
- CAP\_Time\_S1-
- CAP\_Time\_S2-
- CAP\_Time\_SWS: tempo di sonno NREM (totale e per ogni stadio) occupato da sequenze CAP;
- Tot\_num\_A1
- Tot\_num\_A2
- Tot\_num\_A3: Numero totale di fasi A1, A2 e A3 durante sonno NREM;
- Tot\_num\_A1%
- Tot\_num\_A2%
- Tot\_num\_A3%: Percentuale di fasi A1, A2 e A3 durante sonno non-REM;
- Seq\_mean\_dur: Durata media delle sequenze, in secondi;

- Num\_of\_seq: Numero delle sequenze di cicli CAP;
- Cyc\_seq: numero medio di cicli CAP per sequenza;
- A\_in\_seq%: percentuale del numero totale di fasi A del CAP in sequenza.

### *Assessment neuropsicologico*

Tutti i soggetti sono stati sottoposti ad una batteria di test neuropsicologici in 3 sessioni successive, una al mattino successivo la prima notte di registrazione, una nel pomeriggio ed un'altra al mattino successivo alla seconda notte di registrazione.

La batteria di test neuropsicologici comprendeva:

HVLT(TR) = Hopkins verbal learning test, total recall

HVLT(DR) = Hopkins verbal learning test, delayed recall

HVLT(R) = Hopkins verbal learning test, retention

HVLT(RDI) = Hopkins verbal learning test, recognition  
discrimination index

TRL A = Trail Making Test A

TRL B = Trail Making Test B

Test di Corsi

DS-F = digit span forward

DS-B = digit span backward

Test di Cowat

Associazione di simboli a numeri

Test di Benton

Stroop prima, seconda e terza tavola

Ruff Figural Fluency Test

Tutti valori riportati sotto nei risultati si riferiscono ai punteggi grezzi.

Ove presente, la correzione è stata effettuata ma l'analisi statistica ha evidenziato lo stesso pattern di significatività e pertanto sono stati omessi per semplicità di esposizione.

Di seguito viene data una breve descrizione dei vari test utilizzati nello studio.

L'Hopkins Verbal Learning Test (HVLT) è una valutazione del verbal learning e della memoria (di riconoscimento e di richiamo), applicabile a soggetti da 16 anni in su. E' molto facile da somministrare e da correggere, viene generalmente ben tollerato anche da soggetti con deficit cognitivi. E' stato validato su varie popolazioni di soggetti con disturbi cerebrali (malattia di Alzheimer, malattia di Huntington, disturbi mnestici, ect). Sono disponibili 6 diverse forme, ciascuna è formata da 12 parole, 4 parole della lista appartengono ad una delle 3

categorie semantiche, ad esempio: armi, bevande alcoliche e utensili da cucina). Le categorie semantiche sono diverse nelle 6 forme del test, ma le forme del test sono tutte molto simili per quanto riguarda le loro caratteristiche psicometriche. La consegna che viene data ai soggetti è “Adesso ti leggerò una lista di parole, quando avrò finito tu devi ripetere tutte quelle che ti ricordi”. La lista delle parole viene fatta in tre tempi, vale a dire, dopo la prima lettura il soggetto deve ripetere tutte le parole che ricorda, e ancora dopo la seconda e la terza. Questo test, molto simile al forse più conosciuto test delle 15 parole di Rey, comprende tre trials di apprendimento: un richiamo immediato; un richiamo ritardato (delayed recall) dopo 20-25 minuti; e un riconoscimento ritardato SI/NO. Per il riconoscimento, infatti, la consegna sarà: “Ora ti leggerò una lista di parole più lunga. Alcune di queste sono parole della lista originale, altre no. Dopo che leggo ogni parola dovresti dirmi “SI” se era nella lista originale e “NO” se non c’era”. Questo ultimo trial consiste in una lista randomizzata che include le 12 parole target e 12 parole non target, 6 delle quali fanno parte delle stesse categorie semantiche dei target. Alla fine del test si ottengono punteggi per il total recall: la somma di tutte le parole ricordate dal soggetto nelle tre somministrazioni; delayed recall: la somma delle parole che ricorda dopo 20-25 minuti; ritenzione: la

percentuale di parole; l'indice di discriminazione nel riconoscimento (il recognition discrimination index) vale a dire quanto il soggetto è stato capace di discriminare tra le parole target e quelle non target. Questo ultimo indice è dato dalla differenza tra i falsi positivi e i falsi negativi. Il HVLT ha un'alta affidabilità test-retest, i campioni normativi includono soggetti da 16 ai 92 anni.

Il Trail Making Test (TMT) valuta il modo di procedere in compiti di ricerca visiva e spaziale, indaga le abilità attentive del soggetto e la sua capacità nel passare velocemente da uno stimolo di tipo numerico ad uno alfabetico. Introdotto per la prima volta nel 1944, è uno dei test neuropsicologici più frequentemente usati per la sua semplicità di somministrazione e sensibilità nel rilievo del danno cerebrale. Può essere somministrato a soggetti da 15 anni ad oltre 70, a patto che conoscano l'ordine numerico e alfabetico. Il trail making test è formato da due prove, la parte A e la parte B. Nella prima (prova A) gli stimoli sono costituiti una serie di numeri che vanno da 1 a 25, cerchiati e stampati in ordine sparso su un foglio formato A4. Il numero 1 corrisponde all'inizio, il 25 costituisce la fine. Nella seconda (prova B) gli stimoli sono formati sia da numeri che da lettere; il numero 1 corrisponde all'inizio e il 13 alla fine, le lettere vanno dalla A alla N. Ciascuna delle due prove è preceduta da una prova di

comprensione con lo scopo di far capire correttamente al soggetto le regole del compito. Gli stimoli delle prove di comprensione sono costruiti con i medesimi stimoli, l'unica differenza sta nel fatto che sono di minore quantità. Al soggetto viene mostrata la prova della parte A . Gli si richiede di unire con dei segmenti tracciati a penna i numeri cerchiati seguendo l'esatto ordine, dall'inizio alla fine. Si specifica che la prova è a tempo e che quindi la velocità di esecuzione è una variabile fondamentale. Una volta appurato che il soggetto ha capito come svolgere correttamente la prova si passa al vero e proprio test. Il cronometro viene fatto partire in corrispondenza dell'inizio della prova e l'esaminatore deve stare attento agli errori compiuti dal soggetto e correggerli, nel caso in cui questa operazione richiedesse troppo tempo viene fermato il cronometro e fatto ripartire quando il soggetto è pronto. La parte A richiede al soggetto di attivare una serie di operazioni cognitive quali la ricerca spaziale e visiva dei numeri nella loro giusta sequenza impiegando il minor tempo possibile.

Il principio della prova B è lo stesso, con la differenza che qui il paziente (o il soggetto) deve alternare lo stimolo numerico a quello alfabetico, sempre seguendo l'ordine. Questa seconda parte del TMT è certamente più complessa e impegnativa rispetto alla prima. Qui infatti, oltre a un compito di ricerca visiva e spaziale, il soggetto deve

eseguire un compito di switch, cioè di alternanza continua da uno stimolo di tipo numerico a uno di tipo alfabetico. I tempi di prestazione di questa prova sono molto più elevati, soprattutto nei soggetti anziani che spesso hanno difficoltà a capire la natura del compito e a mantenere costante lo switch tra le due diverse categorie di stimoli. Disturbi psicotici, disturbi emotivi e d'ansia di grave entità possono influenzare negativamente la parte B del test, anche se raramente producono prestazioni assimilabili ad un quadro caratterizzato da danno cerebrale.

Il test di Corsi, detto anche test dei cubetti, di Philip Corsi è un test che misura lo span di memoria visuo-spaziale. Uno dei metodi più semplici e veloci di valutare la memoria a breve termine è proprio misurare lo span di memoria visuo-spaziale. Per span si intende la massima quantità di informazioni visuo-spaziali che il soggetto riesce a trattenere nella memoria recente o memoria a breve termine. Il test si compone semplicemente di una tavoletta sulla quale sono disposti in modo asimmetrico nove cubetti, numerati dal lato rivolto all'esaminatore. Quest'ultimo tocca con il dito serie di cubi di lunghezza crescente, fino a 10, al ritmo di un cubetto ogni 2 secondi. La consegna data è: "Tocca i cubetti che tocco io, subito dopo di me". Vengono presentate tre sequenze per ogni serie. Qualora il soggetto

riesca a riprodurre in modo corretto 2 sequenze su 3 si passa alla serie successiva. La lunghezza della sequenza che il soggetto riesce a riprodurre costituisce il suo span di memoria visuo-spaziale. Lo span di memoria spaziale medio è circa 5, sono state trovate differenze statisticamente significative tra i punteggi medi per età e scolarità ma non per sesso, in campioni di adulti e anziani (Spinnler e Tognoni, 1987).

Il Digit Span è un test per la misurazione dello span di memoria verbale (memoria di cifre), usato nelle batterie Wechsler. Si compone di due diversi tests: Forward (ripetizione di cifre in avanti) e Backward (ripetizione di cifre all'indietro). Entrambe le forme sono caratterizzate da sequenze crescenti di numeri, da 2 a 9. L'esaminatore legge la sequenza di numeri (un numero al secondo). Ogni volta che il soggetto è in grado di riprodurre correttamente la sequenza di numeri il somministratore passa alla sequenza successiva. Ogni serie di numeri viene presentata per tre volte. Due ripetizioni corrette su tre garantiscono il passaggio alla serie successiva. La sequenza di numeri più lunga che il soggetto riesce a riferire correttamente costituisce il suo span di memoria di cifre. L'89% dei soggetti normali ha uno span forward compreso tra 5 e 8 (Kaplan, Fein et al, 1991).

Il Test Controlled Oral Word Association Test (COWAT), inizialmente chiamato verbal associative fluency test, è un test che valuta la fluenza verbale del soggetto. Fu Benton originariamente a studiare la fluenza verbale attraverso la produzione di parole, a partenza da una determinata lettera. Questo test consiste in un compito di denominazione, vale a dire il soggetto deve dire tutte le parole che gli vengono in mente che iniziano con una determinata lettera, escludendo i nomi propri, i numeri e parole che differiscono solo nella parte finale. Le serie utilizzate nel nostro studio sono state: PLF, CFL e FAS, somministrando ognuna di queste forme nei tre momenti di valutazione (la mattina del primo giorno, il pomeriggio del primo giorno e la mattina del secondo giorno). E' un test a tempo, il soggetto ha a disposizione un minuto per ogni lettera, ma non è a conoscenza di questa informazione. Il punteggio che si ottiene è dato dalla somma di tutte le parole esatte riprodotte dal soggetto nei tre compiti. Vengono calcolati anche il numero di errori e le ripetizioni (perseverazioni).

Il test di associazione di simboli a numeri fa parte delle scale di performance della WAIS-R (Wechsler Adult Intelligence Scale-Revised). Si tratta di un semplice test nel quale il soggetto è chiamato a porre un simbolo (sempre lo stesso) in corrispondenza di un

determinato numero. E' un test a tempo, al soggetto vengono dati 90 secondi di tempo (il soggetto non viene, però, informato di ciò), il numero di caselle riempite correttamente costituirà il punteggio al test.

Il test di giudizio di orientamento di linee di Benton (Benton et al, 1975; Benton et al, 1983; Benton et al., 1993) è un test di discriminazione di orientamento di linee. E' composto da due forme parallele, la forma H e la forma V. Il soggetto ha di fronte un libretto che deve essere tenuto dallo sperimentatore a 90°, con una parte superiore dove sono disposte a raggiera 11 linee e nella parte inferiore solo due di queste. Compito del soggetto è dire quale delle linee va nella stessa direzione ed è nella stessa posizione delle linee disegnate nella parte superiore del libretto, deve cioè confrontare le inclinazioni delle linee con il modello sul quale sono rappresentate tutte le inclinazioni possibili. Il punteggio è dato dalla somma di tutte le risposte corrette e può andare da 0 a 30. Punteggi inferiori a 26 sono generalmente considerati al di sotto delle prestazioni medie. Punteggi tra 15 e 18 indicano deficit lievi o moderati in questa area e, infine, punteggi inferiori a 15 sono rappresentativi di un severo deficit.

Lo Stroop test (Color Word Interference Test) è volto alla valutazione dell'attenzione visiva. E' test rapido (richiede dai 5 agli 8 minuti per la somministrazione) e semplice da somministrare. Si compone di tre

subtest da svolgere con l'ausilio di tre differenti tavole: su una sono scritti cinque nomi di colori, il soggetto deve leggere semplicemente le parole; sulla seconda ci sono quadrati di vari colori, il soggetto deve dire il nome dei colori; sulla terza ci sono scritti i nomi dei colori ma con inchiostri di colori differenti (ad esempio **VERDE**), il soggetto deve dire il colore con cui è scritta la parola (nel nostro esempio "ROSSO"). Il soggetto viene informato, durante le consegne, che dovrà svolgere il compito il più velocemente e accuratamente possibile. Questo test nasce dagli studi di Stroop (Stroop, 1935) sull'interferenza e fornisce misure sulle differenze individuali nella velocità di lettura, capacità di denominare i colori e superare l'interferenza. I tempi di somministrazione del test sono molto ristretti da 5 a 8 minuti. La differenza tra i tempi impiegati per completare le tre tavole fornisce una misura attenta e delle capacità di controllare risposte conflittuali.

Ruff Figural Fluency Test (RFFT) fornisce informazioni cliniche riguardo alla capacità non verbale di pensiero fluido e divergente, pianificare strategie, spostarsi flessibilmente da un set cognitivo ad un altro e alla abilità esecutiva di coordinare questi processi. Il RFFT è l'analogo non verbale al più popolare test di fluenza verbale. Il test si compone di 5 diverse parti, ognuno con una differente presentazione

degli stimoli. Compito del soggetto è di fare quanti più disegni possibili, tutti diversi tra loro, unendo dei puntini in differenti pattern. Ognuna delle 5 parti del test deve essere svolta entro un minuto. Ogni parte è formata da 35 quadrati, con una diversa distribuzione dei punti, nelle parti 2 e 3 sono presenti dei distrattori. Il punteggio è dato dal numero di disegni fatti, vengono valutati gli errori perseverativi, vale a dire la ripetizione degli stessi disegni. Nel nostro studio ci siamo serviti delle parti 1, 4 e 5, quelle cioè senza distrattori, somministrando ognuna di esse nelle tre sessioni di valutazione (la mattina dopo la prima registrazione PSG, il pomeriggio dello stesso girone e la mattina dopo la seconda registrazione).

#### *Analisi statistica*

L'analisi statistica delle eventuali differenze tra i parametri ipnici macrostrutturali e microstrutturali ottenuti nelle due notti di registrazione è stata condotta per mezzo del test non parametrico di Wilcoxon per dati appaiati.

L'analisi delle eventuali differenze tra i punteggi ottenuti ai diversi test neuropsicologici nelle 3 sessioni è stata condotta per mezzo dell'analisi della varianza non parametrica di Friedman per dati appaiati; quando

essa era significativa, è stato usato test non parametrico di Wilcoxon per dati appaiati per la valutazione delle differenze tra le coppie di sessioni.

Infine, per esaminare le correlazioni tra i parametri microstrutturali del sonno ed il funzionamento cognitivo, è stata condotta una serie di correlazioni parziali controllando, contemporaneamente, gli effetti dell'età e degli anni di scolarità dei soggetti.

Per l'analisi statistica è stato utilizzato il software commerciale Statistica (StatSoft, Inc. 2004, version 6. <http://www.statsoft.com>).

## Risultati

La Tabella 2 mostra i risultati dell'analisi della macrostruttura del sonno ottenuti durante la prima e la seconda notte di registrazione.

Tabella 2	1a Notte		2a Notte		Wilcoxon test	
	Media	D.S.	Media	D.S.	T	p<
TIB, min	457.7	27.32	457.1	34.01	14.0	NS
SPT, min	427.3	15.29	432.3	33.89	16.0	NS
TST, min	387.9	63.48	405.4	44.89	11.0	NS
SOL, min	23.1	21.80	19.8	16.57	17.5	NS
FRL, min	114.3	78.00	96.2	32.69	18.0	NS
SS/h	10.4	3.90	10.0	3.40	17.0	NS
AWN/h	4.9	2.80	4.5	1.87	9.0	NS
SEI, %	84.7	13.49	88.7	6.10	12.0	NS
WASO, %	9.4	13.58	6.4	3.60	17.5	NS
S1, %	3.9	2.56	3.4	2.10	13.0	NS
S2, %	45.8	8.79	49.5	9.79	14.0	NS
SWS, %	21.8	7.03	20.5	7.17	13.0	NS
REM, %	19.2	6.73	20.2	5.70	16.0	NS

Nessuno dei parametri macrostrutturali riportati in tabella 1 mostrava variazioni significativi tra la prima e la seconda notte di registrazione e presentavano valori attesi per soggetti giovani e buoni dormitori.

La Tabella 3 riporta i risultati dell'analisi della microstruttura del sonno per mezzo del CAP ottenuti durante la prima e la seconda notte di registrazione.

Anche in questo caso i valori complessivi sono quelli attesi per soggetti giovani sani e buoni dormitori; tuttavia, il CAP rate totale appare tendenzialmente più alto nella prima notte di registrazione e

significativamente più alto in stadio 2 di sonno, sempre durante la prima notte.

Tabella 3	1 <sup>a</sup> Notte		2 <sup>a</sup> Notte		Wilcoxon test	
	Media	D.S.	Media	D.S.	T	p<
<b>CAP Rate, %</b>						
<b>Totale</b>	42.8	8.45	34.2	8.76	5.0	NS
<b>S1</b>	15.8	18.20	12.1	12.11	10.0	NS
<b>S2</b>	43.0	11.70	33.5	9.29	4.0	0.05
<b>SWS</b>	50.9	21.75	40.2	8.23	10.0	NS
<b>A1%</b>	42.5	15.01	45.2	19.81	18.0	NS
<b>A2%</b>	46.5	14.58	43.6	16.57	13.0	NS
<b>A3%</b>	11.1	7.66	11.3	8.61	16.0	NS
<b>A1 durata, s</b>	16.6	5.58	16.6	6.28	14.0	NS
<b>A2 durata, s</b>	19.9	7.82	20.1	6.95	13.0	NS
<b>A3 durata, s</b>	13.8	3.38	14.1	3.52	17.0	NS
<b>A1 indice</b>	22.8	14.83	20.8	16.26	12.0	NS
<b>A2 indice</b>	18.5	7.57	14.0	5.06	7.0	NS
<b>A3 indice</b>	4.8	4.67	3.6	3.42	11.0	NS
<b>B durata, s</b>	23.8	3.20	22.5	2.36	7.0	NS
<b>Ciclo durata, s</b>	41.9	9.24	40.4	8.33	9.5	NS
<b>Sequenze durata, s</b>	281.8	53.48	242.1	75.09	8.0	NS
<b>Numero di sequenze</b>	28.5	6.21	28.5	9.44	17.0	NS

#### *Analisi dell'assessment neuropsicologico*

La Tabella 4 riporta i risultati dell'assessment neuropsicologico condotto nelle tre sessioni durante la mattina ed il pomeriggio del primo giorno (successivo alla prima notte di registrazione) e durante la mattina del secondo giorno (successivo alla seconda notte di registrazione).

Tabella 4	a) 1 <sup>a</sup> mattina		b) 1 <sup>o</sup> pomeriggio		c) 2 <sup>a</sup> mattina		Friedman ANOVA	Wilcoxon test		
	Media	D.S.	Media	D.S.	Media	D.S.	p<	a vs. b	a vs. c	b vs. c
<b>HVLT(TR)</b>	28.5	1.77	25.9	3.00	27.9	3.00	NS			
<b>HVLT(DR)</b>	9.4	1.30	8.5	1.93	8.9	2.36	NS			
<b>HVLT(R)</b>	82.7	12.47	78.2	16.60	79.6	19.16	NS			
<b>HVLT(RDI)</b>	11.3	1.39	9.5	2.51	10.5	1.51	NS			
<b>Trail making A</b>	24.6	6.15	18.0	3.28	18.5	5.22	0.017	0.018	0.025	NS
<b>Trail making B</b>	91.0	26.45	69.2	25.48	53.3	17.44	0.005	0.018	0.012	NS
<b>Corsi</b>	5.3	1.04	5.4	1.60	6.1	1.13	NS			
<b>Digit span F</b>	6.3	1.49	6.4	1.19	6.4	0.52	NS			
<b>Digit span B</b>	5.0	1.60	5.0	1.31	5.1	1.46	NS			
<b>COWAT</b>	37.8	5.39	43.6	5.93	48.0	9.90	0.0022	0.012	0.012	NS
<b>ASN</b>	56.1	14.52	58.9	12.33	65.9	12.65	0.02	NS	0.05	0.017
<b>Benton</b>	24.9	2.47	26.5	2.98	27.3	2.76	NS			
<b>Stroop I tavola</b>	110.5	16.58	115.3	14.12	119.1	13.93	NS			
<b>Stroop II tavola</b>	69.8	12.77	76.3	11.47	78.1	10.34	0.025	0.012	0.012	NS
<b>Stroop III tavola</b>	41.9	5.22	51.4	8.09	54.9	9.19	0.0015	0.012	0.012	NS
<b>RFFT</b>	13.1	4.58	16.8	4.10	17.5	5.55	0.05	NS	0.035	NS

HVLT(TR) = Hopkins verbal learning test, total recall  
 HVLT(DR) = Hopkins verbal learning test, delayed recall  
 HVLT(R) = Hopkins verbal learning test, retention  
 HVLT(RDI) = Hopkins verbal learning test, recognition discrimination index  
 ASN = associazione di simboli a numeri

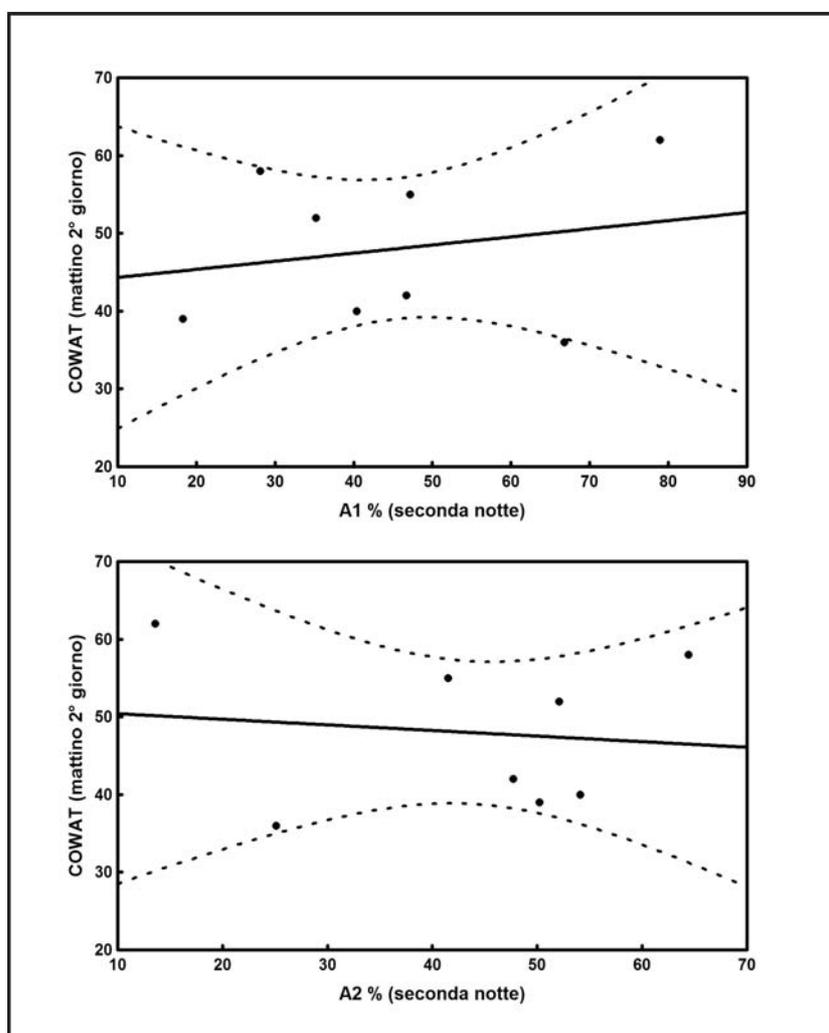
Differenze significative sono state ottenute per il Trail making test A e B, per il test COWAT, l'associazione di simboli a numeri, per la seconda e la terza tavola dello Stroop e per il RFFT. Gli score ottenuti alle varie prove del Hopkins verbal learning test mostravano essenzialmente variazioni circadiane che tuttavia non raggiungevano la significatività statistica. Lo score ottenuto al Trail making test A era minimo durante la prima sessione mentre quello al Trail making B era massimo durante la stessa sessione, tuttavia gli score ottenuti nella seconda e nella terza sessione non erano significativamente differenti tra di loro. Il test di Corsi ed il digit span non mostravano differenze

significative tra le sessioni. Il test COWAT, al contrario, mostrava un progressivo incremento con le sessioni che raggiungeva la significatività statistica soprattutto nel confronto tra la prima e le altre sessioni. Anche l'associazione di simboli a numeri mostrava un incremento significativo tra le sessioni; tuttavia, in questo caso, l'incremento osservato tra la prima e la seconda sessione non raggiungeva la significatività statistica. Gli score ottenuti allo Stroop test mostravano anch'essi un incremento progressivo tra le sessioni che raggiungeva la significatività statistica per la seconda e la terza tavola, soprattutto per la differenza tra il punteggio alla prima sessione e quello nelle altre sessioni. Il RFFT mostrava anch'esso un incremento progressivo dello score che raggiungeva la significatività statistica nel confronto tra la prima e l'ultima sessione. Infine, è interessante notare come, ad esclusione dell'associazione di simboli a numeri, non vi fossero altre differenze significative tra le ultime due sessioni.

*Analisi delle correlazioni tra microstruttura del sonno (CAP) ed assessment neuropsicologico*

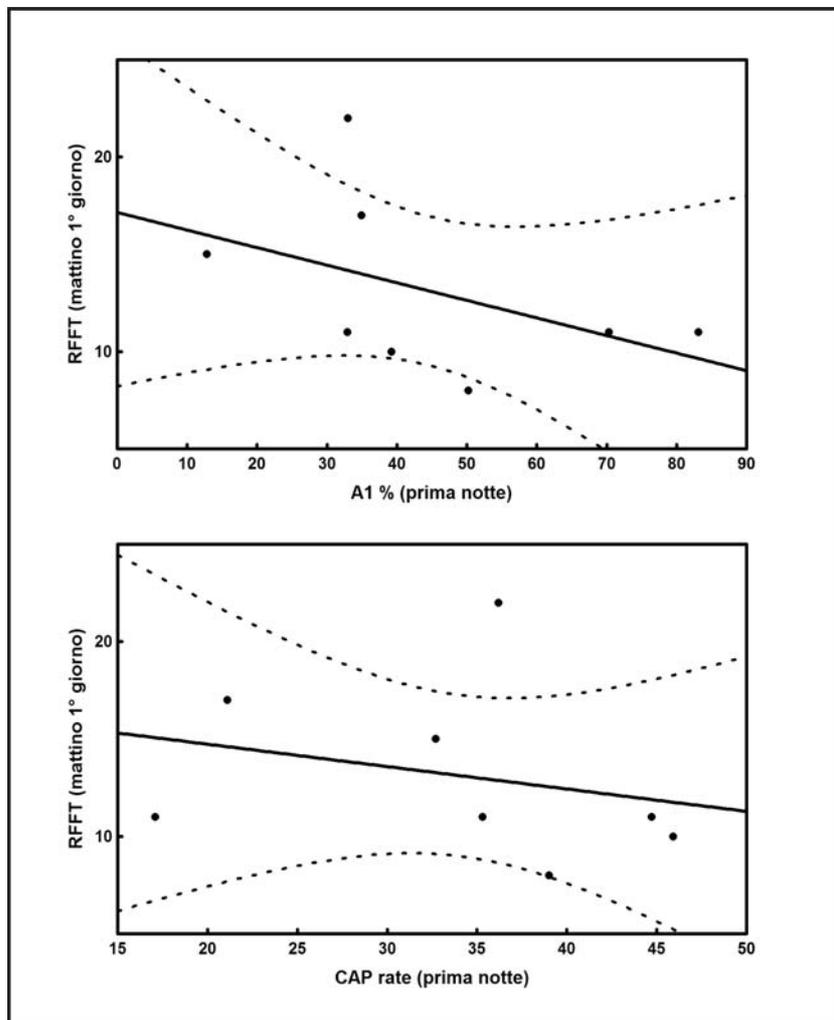
Per quanto riguarda le misure di fluenza verbale e non verbale, i risultati hanno indicato una correlazione positiva tra la performance al

COWAT nella seconda prova mattutina e la percentuale di fasi CAP A1 nella notte di registrazione precedente (notte 2) ( $r = 0.82, p = 0.022$ ). La stessa performance al COWAT era correlata negativamente alla percentuale di A2 nella registrazione della notte precedente ( $r = -0.86, p = 0.015$ ). La figura 19 mostra queste due correlazioni, come esempio.



*Fig.15*

Inoltre, la performance al RFFT al mattino dopo la prima notte di registrazione era correlata negativamente con la percentuale di fasi A1 ( $r = -0.87, p = 0.012$ ) e con il CAP rate globale ( $r = -0.76, p = 0.039$ ) nella notte precedente. La figura 16 mostra queste due correlazioni, come esempio.



*Fig. 16*

E' stata trovata una correlazione positiva tra RFFT al mattino dopo la prima registrazione e la percentuale di A2 la notte precedente ( $r = 0.94, p = 0.003$ ). Invece, correlazioni negative sono state ottenute tra la performance pomeridiana al RFFT e percentuale di A1 ( $r = -0.73, p = 0.049$ ) e CAP rate ( $r = -0.77, p = 0.036$ ) nella notte precedente.

I parametri ipnici microstrutturali sono stati anche correlati con misure di attenzione verbale e visuospaziale e la working memory. In particolare, la performance al Digit Span-Forward (DS-F) al mattino dopo la seconda registrazione era correlata negativamente con la percentuale di A2 durante la notte precedente ( $r = -0.75, p = 0.043$ ); la performance al Digit Span-Backward (DS-B) era correlata negativamente con la percentuale di A2 ( $r = -0.92, p = 0.005$ ) e correlata positivamente con la percentuale di A1 ( $r = 0.78, p = 0.033$ ) nelle stesse sessioni (mattina secondo giorno/seconda notte). Inoltre, la performance pomeridiana al DS-B era correlata negativamente con la percentuale di A2 ( $r = -0.73, p = 0.049$ ) della notte precedente. La performance pomeridiana al test dei blocchi di Corsi era correlata positivamente con il CAP rate ( $r = 0.80, p = 0.029$ ) della notte precedente e anche quella al mattino dopo la seconda registrazione era

correlata positivamente con il CAP rate della notte precedente ( $r = 0.75, p = 0.043$ ).

Altri indici del funzionamento esecutivo erano anche correlati con i parametri microstrutturali. In particolare, la performance all'ASN al mattino successivo alla seconda registrazione era correlata positivamente con il CAP rate durante la notte precedente ( $r = 0.90, p = 0.007$ ). La performance al Trail Making Test parte A (TMT A) al mattino successivo la prima registrazione era correlato negativamente con la percentuale di A3 durante la notte precedente ( $r = -0.75, p = 0.044$ ). La performance pomeridiana al TMT A era anche correlata positivamente con il CAP rate durante la notte precedente ( $r = 0.79, p = 0.031$ ). Inoltre, la performance al TMT B al mattino dopo la prima registrazione era correlata negativamente con la percentuale di A3 rate durante la notte precedente ( $r = -0.75, p = .042$ ).

Infine, abbiamo esaminato la correlazione tra performance al Hopkins Verbal Learning Test (HVLT) e parametri ipnici microstrutturali trovando una correlazione positiva tra il Delayed Recall (DR) delle parole pomeridiano e la percentuale di A1 ( $r = 0.76, p = 0.039$ ) e una correlazione negativa tra lo stesso DR pomeridiano e la percentuale di A2 ( $r = -0.92, p = 0.004$ ) durante la notte precedente. Anche l'HVLT(R) pomeridiana era correlata positivamente con la percentuale

di A1 ( $r = 0.76, p = 0.039$ ) e con il CAP rate ( $r = 0.82, p = 0.023$ ) durante la notte precedente; la stessa performance era correlata negativamente con la percentuale di A2 ( $r = -0.88, p = 0.01$ ).

La tabella 5 riassume tutte le correlazioni che hanno raggiunto la significatività statistica.

Tabella 5	correlazione parziale	
	r	p<
<b>Fluenza verbale e non verbale</b>		
COWAT mattina2 / A1% notte2	0.82	0.022
COWAT mattina2 / A2% notte2	-0.86	0.015
RFFT mattina1 / A1% notte1	-0.87	0.012
RFFT mattina1 / CAP rate notte1	-0.76	0.039
RFFT mattina1 / A2% notte1	0.94	0.003
RFFT pomeriggio1 / A1% notte1	-0.73	0.049
RFFT pomeriggio1 / CAP rate notte1	-0.77	0.036
<b>Working memory verbale e visuospatiale</b>		
DS-F mattina2 / A2% notte 2	-0.75	0.043
DS-B mattina2 / A2% notte 2	-0.92	0.005
DS-B mattina2 / A1% notte 2	0.78	0.033
DS-B pomeriggio1 / A2% notte1	-0.73	0.049
Corsi pomeriggio1 / CAP rate notte1	0.80	0.049
Corsi mattina2 / CAP rate notte2	0.75	0.043
<b>Funzionamento esecutivo</b>		
ASN mattina2 / CAP rate notte2	0.90	0.007
TMT A mattina1 / A3% notte1	-0.75	0.044
TMT A pomeriggio1 / CAP rate notte1	0.79	0.031
TMT B mattina1 / A3% notte1	-0.75	0.042
<b>Hopkins Verbal Learning Test</b>		
HVLT(DR) pomeriggio1 / A1% notte1	0.76	0.039
HVLT(DR) pomeriggio1 / A2% notte1	-0.92	0.004
HVLT(R) pomeriggio1 / A1% notte1	0.76	0.039
HVLT(R) pomeriggio1 / CAP rate notte1	0.82	0.023
HVLT(R) pomeriggio1 / A2% notte1	-0.88	0.01

## **Discussione**

I risultati di questo lavoro confermano l'ipotesi iniziale della correlazione tra CAP ed alcune funzioni cognitive.

Il primo risultato che prenderemo in considerazione è la correlazione positiva tra CAP e:

- 1) Working memory visuospatiale (test di Corsi);
- 2) Planning e funzioni esecutive (test di associazione tra numeri e lettere e Trial Making A)
- 3) Riconoscimento verbale (Hopkins verbal learning test recognition).

Nella parte introduttiva di questa tesi abbiamo già descritto come l'EEG in sonno contenga molti eventi fasici, quali i delta burst, i complessi K, le onde al vertice etc., e come tali eventi quando si verificano in sonno NREM possono assumere caratteristiche cicliche e vengano descritti sotto il termine di CAP. Abbiamo anche detto come da un punto di vista funzionale, si ritiene che il CAP non sia altro che un indice di sostenuta instabilità dell'arousal con una fase A, indice di un maggiore livello di arousal.

Diversi studi fino ad oggi hanno cercato di capire i meccanismi che sono alla base del controllo della regolazione del sonno. Sappiamo bene infatti che il passaggio tra veglia e sonno è regolato da complessi

meccanismi neurobiologici che chiamano in causa diversi neurotrasmettitori o sistemi neuromodulatori quali il sistema noradrenergico, serotoninergico, colinergico, adenosinergico, istaminergico, dopaminergico ed il sistema ipocretina/orexina.

Molti di tali neurotrasmettitori che subiscono delle oscillazioni nel corso della notte nel passaggio tra le fasi di veglia e sonno, sono anche implicati in meccanismi cognitivi (Per una review vedi Boutrel e Koob 2004).

Durante la veglia ad esempio vi è un elevato rilascio di acetilcolina e ciò sembra possa essere correlato con un miglioramento delle capacità di encoding (acquisizione di memoria) e di consolidamento mnesico (Power et al., 2004). I neuroni colinergici giocano infatti un ruolo critico per quanto concerne funzioni cognitive ma sono anche implicate nei meccanismi di arousal ed attivazione corticale EEGrafica. (Vazquez J et al., 2001.)

A supporto di tale letteratura sappiamo bene come l'eccessiva perdita di neuroni colinergici sia parzialmente responsabile del declino delle funzioni cognitive in soggetti affetti da Malattia di Alzheimer così come farmaci anticolinergici abbiano un'influenza negativa su funzioni cognitive quali memoria e apprendimento.

I nostri risultati indicano una correlazione positiva tra CAP ed alcune funzioni cognitive e non si può escludere che tale instabilità del sonno non possa essere correlata ad una fluttuazione dei livelli di acetilcolina. Un rilascio differenziale di acetilcolina durante il sonno NREM potrebbe determinare i livelli di CAP rate basale, che nella nostra popolazione di soggetti correla positivamente con alcune funzioni cognitive.

Un altro dato molto interessante risiede nel fatto che il CAP rate è sempre correlato con i test eseguiti il giorno dopo, dunque sembra quasi che il CAP rate della notte precedente possa predire le performance dei soggetti la mattina o il pomeriggio successivi. Il perché ciò accada non è oggi a noi noto ma è una caratteristica che si ripete in molte delle correlazioni da noi effettuate. Un'ipotesi potrebbe essere che maggiore è la quantità di acetilcolina prodotta la notte precedente, migliori saranno le performance cognitive il giorno seguente, almeno entro certi limiti e sempre nel caso in cui le modifiche del CAP rate siano soprattutto correlate a modifiche dell'A1 index.

Rimane però motivo di indagine quale sia il fattore eziologico determinante la maggiore o minore quantità di CAP la notte

precedente ai test, in soggetti normali, il cui sonno non è stato manipolato. Non possiamo escludere che il CAP rate non sia altro che un “tratto” diverso da soggetto a soggetto che possa predire determinate funzioni cognitive. Il nostro studio infatti non ci consente di determinare se è il tratto individuale dei nostri soggetti ad avere un impatto su alcune funzioni cognitive. Un'altra ipotesi potrebbe essere che sono le migliori performance in alcuni test a determinare una modifica della microstruttura del sonno. Tuttavia, abbiamo solo testato la prima ipotesi e i nostri soggetti mostravano correlazioni tra CAP rate della notte precedente i test e le performance della notte successiva. Detto ciò sembrerebbe che il CAP possa influenzare le performance dei nostri soggetti circostanzialmente ad alcune funzioni cognitive. Il nostro studio non ci permette di determinare se ci sia una variabilità interindividuale del CAP rate e se questa correli in alcun modo con fattori quali quoziente intellettuale o funzioni cognitive.

Sebbene i nostri soggetti fossero tutti altamente scolarizzati, non abbiamo effettuato un test volto ad esplorare il loro quoziente intellettuale per cui non possiamo fare delle indagini ed inserire il fattore “intelligenza” come covariante. Questo non ci permette ad oggi di trarre nessuna conclusione sul ruolo del CAP come tratto

individuale o come fattore che possa predire le performance cognitive di un individuo.

L'unico test con il quale il CAP correla negativamente è il RFFT. Migliori sono le performance al RFFT durante il giorno, minore è la quantità di CAP durante la notte precedente.

Sebbene l'acetilcolina possa avere un ruolo importante in alcune funzioni cognitive, l'eccesso di acetilcolina potrebbe giocare un ruolo negativo per altre funzioni come ad esempio l'abilità di divergent thinking, la capacità cioè di prendere una direzione diversa rispetto alle comuni modalità di pensiero o di espressione. La capacità di divergent thinking è dipendente dall'integrità del lobo frontale. Pazienti con lesioni del lobo frontale hanno grosse difficoltà a svolgere task di divergent thinking e tendono invece a perseverare (*perseveration behavior*). La difficoltà in questi pazienti è data dal fatto che i loro lobi frontali non hanno più quelle capacità inibitorie che sono caratteristiche di tali lobi e, non avendo capacità di inibire un determinato comportamento, tendono alla perseverazione. E' possibile ipotizzare che un'eccessiva quantità di acetilcolina potrebbe mimare quest'effetto diminuendo le capacità di divergent thinking.

Il RFFT è un test di assessment delle capacità non verbali di fluenza e divergent thinking per cui il fatto che l'aumento del CAP rate sia inversamente correlato alle performance dei nostri soggetti al RFFT potrebbe supportare la nostra ipotesi di coinvolgimento del sistema colinergico.

Una delle nostre ipotesi a priori prevedeva inoltre una possibile correlazione tra performance frontali e indice di fasi A1 del CAP. In accordo con tale ipotesi, un altro risultato del nostro studio è una correlazione positiva tra A1 index e diverse funzioni cognitive quali:

- 1) Fluenza verbale (COWAT);
- 2) Working memory verbale (Digit span backward);
- 3) Memoria a medio termine e riconoscimento (Hopkins verbal learning test delay recall and recognition).

Come accennato precedentemente, recenti studi hanno tentato di mappare le componenti spettrali del CAP (Ferri et al. 2005) ed i risultati sembrerebbero indicare che la componente A1 del CAP è maggiormente rappresentata sulle regioni mediofrontali mentre la componente con frequenze più alte (7-12 Hz) è maggiormente rappresentata nelle regioni parieto-occipitali.

La componente A1 del CAP nel nostro studio correla con le performance di test che sono stati creati per lo studio delle funzioni frontali. La working memory è una funzione del lobo frontale e sembra avere sede nella corteccia frontale dorsolaterale (Aleman A 2008), la fluenza verbale sembra essere correlata con la funzionalità della corteccia prefrontale sinistra (Wood AG 2001), e l'Hopkins verbal learning test è un altro test di funzioni esecutive frontali.

Inoltre, abbiamo anche trovato una correlazione negativa tra fase A2, maggiormente rappresentata nelle regioni posteriori e gli stessi test di funzioni frontali quali:

- 1) Fluenza verbale (COWAT)
- 2) Working memory verbale (Digit span backward, sia la prima che la seconda notte ed il Digit span forward)
- 3) Memoria a medio termine e riconoscimento (Hopkins verbal learning test delay recall and recognition).

Anche la fase A3 del CAP è risultata nel nostro studio correlare negativamente con il trial making test A e B, test diretto allo studio delle funzioni esecutive ed alla capacità di switching attention, dipendenti sempre a loro volta dal lobo frontale. La ragione per cui

anche l'A3 potrebbe essere negativamente correlata ad alcuni test di funzioni frontali potrebbe sempre risiedere nella diversa disposizione di queste 3 componenti del CAP sullo scalpo e nella relazione di reciproca inibizione tra A1 e A2/A3 ipotizzata da Ferri et al. (2005).

Grazie alla interconnettività tra le diverse regioni cerebrali, l'attivazione di un'area potrebbe riverberare su gran parte della corteccia tramite le vie dendriche (Kinsbourne, 1982; Kinsbourne & Hiscock, 1983), e quindi avere un impatto sulla funzione di altre regioni cerebrali. La precisa natura attraverso la quale l'attivazione di una regione potrebbe influenzarne un'altra varia attraverso assi anatomici trasversali e longitudinali. Riguardo l'asse longitudinale, il lobo frontale è noto per la sua natura inibitoria in generale (Aron, Robbins, & Poldrack, 2004; Picton et al., in press), ed in particolare verso le regioni posteriori della corteccia cerebrale (Knight, Staines, Swick, & Chao, 1999; Tucker & Derryberry, 1992).

Denny-Brown (1956) propose una reciproca mutua inibizione tra lobi frontali e regioni cerebrali posteriori. Il lobo frontale è caratterizzato da un comportamento di "evitamento" al contrario del lobo parietale che si caratterizza per un atteggiamento di "approccio o esplorazione". La lesione di una di queste due aree risulterà in uno squilibrio di tale

sistema biunivoco e secondariamente in un rilascio transcorticale del comportamento caratterizzante la regione illesa. Per tale motivo lesioni del lobo frontale risultano in ciò che Denny-Brown definisce trofismo positivo o comportamento di “approccio”, come ad esempio il riflesso di prensione, mentre lesioni parietali si manifestano attraverso il cosiddetto trofismo negativo o comportamento di evitamento, come per esempio la reazione tattile di evitamento (Denny-Brown, 1950; Denny-Brown, 1956; Denny-Brown & Chambers, 1958).

Liotti e Tucker (1995) spiegano come il pattern dinamico di relazione intracorticale debba essere interpretato in termini di equilibrio tra numerose regioni cerebrali, includendo gli assi laterali, longitudinali (antero-posteriore), e trasversali.

Allo stesso modo Mesulam (1986) discute la relazione tra lobo frontale e parietale suggerendo che il lobo frontale promuove il comportamento di evitamento mentre il lobo parietale è responsabile del comportamento di approccio.

Sulla base di tale meccanismo di inibizione intraemisferica tra regioni anteriori e posteriori dello stesso emisfero, potremmo ipotizzare che l'aumento delle A1 sulle regioni frontali corrisponda ad un potenziamento delle funzioni di tale area cerebrale conseguentemente

un'inibizione delle aree posteriori omolaterali ed una diminuzione delle componenti A2 ed A3 maggiormente rappresentate posteriormente.

Studi futuri dovranno mirare allo studio più approfondito di tale ipotesi prima che qualsiasi conclusione possa essere raggiunta a tale proposito.

## **BIBLIOGRAFIA:**

1. **American Academy of Sleep Medicine.** The international classification of sleep disorders (ICDS), revised. Diagnostic and coding manual. Rochester, MN: American Academy of Sleep Medicine; 1997.
2. **Aron a. R., Robbins T. W., Poldrack R. A.** Inhibition and the right frontal cortex. *Trends Cogn Sci* 2004; 8 (4): 170-177.
3. **ASDA (American Sleep Disorders Association).** EEG arousals: scoring rules and examples. *Sleep* 1992; 15: 173-184.
4. **Andreou G., Galanopoulou C., Gourgoulianis K., Karapetsas A., Molyvdas P.** Cognitive status in Down syndrome individuals with sleep disordered breathing deficits (SDB). *Brain Cogn* 2002; 50: 145-9.
5. **Bayer L., Eggermann E., Saint-Mleux B., Machard D., Jones B. E. Mühlethaler M., Serafin M.** Selective action of orexin (hypocretin) on nonspecific thalamocortical projection neurons. *J Neurosci* 2002; 22: 7835-9.
6. **Benton A. L., Hannay H. J., Varney N. R.** Visual perception of line direction in patients with unilateral brain disease. *Neurology* 1975; 25: 907-910.

7. **Benton A. L., Hamsher K. D., Varney N. R., Spreen O.** Contributions of neuropsychological assessment. A clinical manual. *Oxford- Oxford University Press 1983*
8. **Boutrel B., Koob G. F.** What keeps us awake: the neuropharmacology stimulants and wakefulness-promoting medications. *Sleep 2004; 27 (6): 1181-94*
9. **Braun A. R., Balkin T. J., Wesenten N. J. et al.** Regional cerebral blood flow throughout the sleep-wake cycle. An H<sub>2</sub>(15)O PET study. *Brain 1997; 120: 1173-1197.*
10. **Bruni O., Ottaviano S., Guidetti V., Romoli M., Innocenzi M., Cortesi F., et al.** The sleep disturbance scale for children (SDSC). Construction and validation of an instrument to evaluate sleep disturbance in childhood and adolescence. *J. Sleep Res 1996; 5: 251-61.*
11. **Bruni O., Fabrizi P., Ottaviano S., Cortesi F., Giannotti F., Guidetti V.** Prevalences of sleep disorders in childhood and adolescence with headache: a case-control study. *Cephalalgia 1997; 17: 492-8.*
12. **Bruni O., Ferri R., Miano S., Verrillo E., Vittori E., Della Marca G., Farina B., Mennuni G.** Sleep cyclic alternating

- pattern in normal school-age children. *Clin Neurophysiol* 2002; 113: 1806-1814.
13. **Bruni O., Ferri R., Miano S., Verrillo E., Vittori E., Farina B., Smerieri A., Terzano M. G.** Sleep cyclic alternating pattern in normal preschool-aged children *Sleep* 2005; 28: (2) 220-230.
  14. **Bruni O., Ferri R., Vittori E., Novelli L., Vignati M., Porfirio M. C., Aricò D., Bernabei P., Curatolo P.** Sleep architecture and NREM alterations in children and adolescents with Asperger syndrome. *Sleep* 2007; 30: 1577-85.
  15. **Bruni O., Ferri R., Novelli L., Finotti E., Miano S., Guilleminault C.** NREM sleep instability in children with sleep terrors: the role of slow wave activity interruptions. *Clin Neurophysiol* 2008; 119: 985-992.
  16. **Chervin R. D.** The cyclic alternating pattern in children. Editorial. Comment on Lopes M. C. et al Cyclic alternating pattern in peripubertal children. *Sleep* 2005; 28: (2) 215-219 and Bruni et al., Sleep cyclic alternating pattern in normal preschool-aged children *Sleep* 2005; 28: (2) 220-230.
  17. **Cosentino F. I. I., Iero I., Lanuzza B., Tripodi M., Ferri R.** The neurophysiology of the alternating leg muscle activation

(ALMA) during sleep: study one patient before and after treatment with pramipexole. *Sleep Med.* 2006; 7: 63-71.

18. **De Renzi E., Nichelli P.** Verbal and non-verbal short-term memory impairment following hemispheric damage. *Cortex* 1975; 11 (4): 341-54.
19. **Diomedi M., Curatolo P., Scalise A., Placidi F., Caretto F., Gigli G. L.** Sleep anomalies in mentally retarded autistic subjects: Down syndrome with mental retardation and normal subjects. *Brain Dev.* 1999; 21: 548-53.
20. **Elia M., Ferri R., Musumeci S. A., Del Gracco S., Bottitta M., Scuderi C., Miano S., Panerai S., Bertrand T., Grubar J. C.** Sleep in subjects with autistic disorder: a neurophysiological and psychological study. *Brain Dev* 2000; 22: 88-92.
21. **Ferini-Strambi L., Bianchi A., Zucconi M., Oldani A., Castronovo V., Smirne S.** The impact of cyclic alternating pattern on heart rate variability during sleep in healthy young adults. *Clin Neurophysiol* 2000; 111: 99-101.
22. **Ferini-Strambi L., Ortellì P., Castronovo V., Cappa S.** Increased periodic arousal fluctuations during NREM sleep are associated to superior memory. *Brain Res Bull* 2004; 63: 439-42.

23. **Ferrara M., De Gennaro L., Curcio G., et al.** Regional differences of human sleep electroencephalogram in response to selective slow-wave sleep deprivation. *Cereb Cortex* 2002; 12: 737-48.
24. **Ferri R., Curzi-Dascalova J., Del Gracco S., Elia M., Musumeci S. A., Stefanini M. C.** Respiratory pattern during sleep in Down's syndrome: importance of central apnoea. *J Sleep Res* 1997; 6: 134-41.
25. **Ferri R., Curzi-Dascalova J., Del Gracco S., Elia M., Musumeci S. A., Pettinato S.** Heart rate variability and apnea during sleep in Down's syndrome. *J Sleep Res* 1998; 7: 282-7.
26. **Ferri R., Del Gracco S., Elia M., Musumeci S.** Heart rate variability and autonomic function during sleep in fragile-X syndrome. *Am J Med Genet* 1999; 83: 296-7.
27. **Ferri R., Pettinato S., Nobili L., Billiard M., Ferrillo F.** Correlation dimension of EEG slow-wave activity during sleep in narcoleptic patients under best rest conditions. *Int J Psychophysiol* 1999; 34: 37-43.
28. **Ferri R., Elia M., Musumeci S. A., Pettinato S.** The time course of high frequency bands (15-45 Hz) in all-night spectral analysis of sleep EEG. *Clin Neurophysiol* 2000; 111: 1258-1265.

29. **Ferri R., Parrino L., Smerieri M. G., Terzano M. G., Elia M., Musumeci S. A., Pettinato S.** Cyclic alternating pattern and spectral analysis of heart rate variability during normal sleep. *J Sleep Res* 2000; 9: 13-18.
30. **Ferri R., Cosentino F. I., Elia M., Musumeci S. A., Marinig R., Bergonzi P.** Relationship between delta, sigma, beta, gamma EEG bands, at REM sleep onset and REM sleep end. *Clin Neurophysiol* 2001; 112: 2046-52.
31. **Ferri R., Parrino L., Smerieri M. G., Terzano M. G., Elia M., Musumeci S. A., Pettinato S., Stam C. J.** Non linear EEG measures during sleep: effects of the different sleep stages and cyclic alternating pattern. *Int J. Psychophysiol.* 2002; 43 273-286.
32. **Ferri R., Elia M., Agarwal N., Lanuzza B., Musumeci S. A., Pennisi G.** The mismatch negativity and the P3a components of the auditory event-related potentials in autistic low-functioning subjects. *Clin Neurophysiol* 2003; 114: 1671-80.
33. **Ferri R., Bruni o., Miano S., Terzano M.G.** Mapping topographic of the spectral components of cyclic alternating pattern. *Slee Med.* 2005; 6: 29-36.

34. **Ferri R., Bruni o., Miano S., Plazzi G., Terzano M.G.** All-night EEG power spectral analysis of the cyclic alternating pattern components in young adults subjects. *Clin Neurophysiol* 2005; 116: 2429-40.
35. **Ferri R., Miano S., Bruni o., Vankova J., Nevsimalova S., Vandi S., Montagna P., Ferini-Strambi L., Plazzi G.** Non REM sleep alterations in narcolepsy/cataplexy. *Clin Neurophysiol.* 2005; 116: 2675-84.
36. **Ferri R., Bruni o., Miano S., Plazzi G., Spruyt K., Gozal D., Terzano M.G.** The time structure of the cyclic alternating pattern during sleep. *Sleep* 2006 29 (5) 693-699.
37. **Ferri R., Rundo F., Bruni O., Terzano M. G., Stam C. J.** Regional scalp EEG slow wave synchronization during sleep cyclic alternating pattern A1 subtypes. *Neurosci. Lett.* 2006; 404 (3): 352-7.
38. **Ferri R., Rundo F., Bruni O., Terzano M. G., Stam C. J.** Small-world network organization of functional connectivity of EEG slow wave activity during sleep. *Clin Neurophysiol.* 2007; 118: 449-456.
39. **Ferri R., Huber R., Aricò D., Drago V., Rundo F., Ghilardi M. F., Massimini M., Tononi G.** The slow wave components

of the cyclic alternating pattern (CAP) have a role in the sleep-related processes. *Neurosc. Lett.* 2008; 432: 228-231.

40. **Ferrillo F., Gabarra M., Nobili L., Parrino L., Schiavi G., Stubinski B., Terzano M.G.** Comparison between visual scoring of cyclic alternating pattern (CAP) and computerized assessment of slow EEG oscillations in the transition from light to deep sleep. *J. Clin. Neurophysiol.*, 1997, 14: 210-16.
41. **Godbout R., Bergeron C., Limoges E., Stip E., Mottron L.** A laboratory study of sleep in Asperger's syndrome . *Neuroreport* 2000; 11: 127-130.
42. **Guilleminault C., Lee J. H., Chan A., Lopes M. C., Huang Y., Rosa A.** Non-REM sleep instability in recurrent sleepwalking in pre-pubertal children. *Sleep Med* 2005; 6: 515-521.
43. **Halasz P, Terzano M. G., Parrino L., Bodizs R.** The nature of arousal in sleep. *J. Sleep Res.* 2004; 13: 1-23
44. **Harrison Y., Horne J.** Sleep loss impairs short and novel language tasks having a prefrontal focus. *J. Sleep Res.* 1998; 7: 95-100.
45. **Hood B., Bruck D.** Sleepiness and performance in narcolepsy. *J Sleep Res* 1996; 5: 128-34.

46. **Hong S. C., Hayduk R., Lim J., Mignot E.** Clinical and polysomnographic features in HLA-DQB1\*0602 positive and negative narcolepsy patients: results from the modafinil clinical trial. *Sleep Med* 2000; 1: 33-9.
47. **Huber R., Ghilardi M. F., Massimini M., Tononi G.** Local sleep and learning. *Nature* 2004; 430 78-81
48. **Kaplan 1991**
49. **Knight R. T., Staines W. R., Swick D., Chao L. L.** Prefrontal cortex regulates inhibition and excitation in distributed neural networks. *Act Psychol* 1999; 101: 159-78.
50. **Levanon A., Tarasiuk A. Tal A.** Sleep characteristics in children with Down syndrome. *J Pediatr* 1999; 134: 755-60.
51. **Lin L., Faraco J., Li R. et al.,** The sleep disorder canine narcolepsy is caused by a mutation in the hypocretin (orexin) receptor 2 gene. *Cell.* 1999; 98: 365-76
52. **Lindblom N., Heiskala H., Kaski M., Leinonen L., Nevanlinna A., Iivanainen M., et al.** Neurological impairments and sleep-wake behaviour among the mentally retarded. *J. Sleep Res.* 2001; 10: 309-318.

53. **Liu X., Hubbard J. A., Fabes R. A., Adam J. B.** Sleep disturbances and correlates of children with autism spectrum disorders. *Child Psychiatry Hum Dev* 2006; 37: 179-191.
54. **Lopes M. C. Rosa A., Roizenblatt S., Guilleminault C., Passarelli C., Tufik S., Poyares D.** Cyclic alternating pattern in peripubertal children. *Sleep* 2005; 28: (2) 215-219.
55. **Maquet P, Dive D., Salmon E., et al.,** Cerebral glucose utilization during sleep wake cycle in man determined by positron emission tomography and [18F]2-fluoro-2-deoxy-D-glucose method. *Brain Res.* 1990; 513: 136-43.
56. **Marcus C. L., Keens T. G., Bautista D. B., von Pechmann W. S., Ward S. L.** Obstructive sleep apnea in children with Down syndrome. *Pediatrics* 1991; 88: 132-9.
57. **Marshall L., Helgadottir H., Mölle M., Born J.** Boosting slow oscillations during sleep potentiates memory. *Nature* 2006; 30 444 (7119): 610-3.
58. **Massimini M., Rosanova M., Mariotti M.,** EEG slow (approximately 1 Hz) waves are associated with nonstationarity og thalamo-cortical sensory processing in the sleeping human. *J. Neurophysiol.* 2003; 89: 1205-13.

59. **Massimini M., Huber R., Ferrarelli F., Hill S., Tononi G.**  
The sleep slow oscillation as a travelling wave. *J. Neurosci* 2004;  
24 (31) 6862-6870.
60. **Mazzocco M.M.M.** Advances in research on the fragile-X  
syndrome. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev* 2006; 6: 96-106.
61. **Miano S., Donfrancesco R., Bruni O., Ferri R., Galiffa S.,  
Pagani J., et al.** NREM sleep instability is reduced in children  
with attention-deficit/hyperactivity disorder. *Sleep* 2006; 29: 797-  
803.
62. **Miano S., Bruni O., Elia M., Trovato A., Smerieri A.,  
Verrillo E., Roccella M., Terzano M. Ferri R.** Sleep in  
children with autistic spectrum disorder: a questionnaire and  
polysomnographic study. *Sleep Med* 2007; 9: 64-70.
63. **Miano S., Bruni O., Elia M., Scifo L., Smerieri A., Trovato  
A., Verrillo E., Terzano M. G., Ferri R.** Sleep phenotypes of  
intellectual disability: a polysomnographic evaluation in subjects  
with Down syndrome and Fragile-X syndrome. *Clin Neurophysiol*  
2008; 119: 1242-1247.
64. **Mignot E., Tafti M., Dement W. C., Grumet F. C.,**  
Narcolepsy and immunity. *Adv Neuroimmunol* 1995; 5: 23-37.

65. **Möller M., Marshall L., Gais S., Born J.** Grouping of spindles activity during slow oscillation in human non rapid eye movements sleep. *J Neurosci* 2002; 22: 1049-7.
66. **Musumeci S. A., Ferri R., Elia M., Del Gracco S., Scuderi C., Stefanini M. C.** Normal respiratory pattern during sleep in young fragile-X syndrome. *J Sleep Res* 1996; 5: 272.
67. **Naumann A., Bierbrauer J., Przuntek H., Daum I.** Attentive and preattentive processing in narcolepsy as revealed by event-related potentials (ERPs). *Neuroreport* 2001; 12: 2807-11.
68. **Nofzinger E.A.** What can neuroimaging findings tell us about sleep disorders? *Sleep Med.* 2004; 5 (suppl. 1): S16-S22.
69. **Oyane N., Bjorvatn B.** Sleep disturbances in adolescents and young adults with autism and Asperger syndrome. *Autism* 2005; 9: 83-94.
70. **Paavonen E. J., Nieminen-von Wendt T., Vanhala R., Aronen E. T., von Wendt L.** Effectiveness of melatonin in the treatment of sleep disturbance in children with Asperger disorder. *J Child Adolesc Psychopharmacol* 2003; 3: 83-95.
71. **Parrino L., Boselli M., Buccino G. P. et al.** The cyclic alternating pattern plays a gate control on periodic limb

- movements during non rapid eye movement sleep. *J Clin Neurophysiol.* 1996; 13: 314-23.
72. **Parrino L., Boselli M., Spaggiari M.C., Smerieri A., Terzano M.G.** Cyclic alternating pattern (CAP) in normal sleep: polysomnographic parameters in different age groups. *Electroencephalogr. Clin Neurophysiol* 1998; 107: 439-50.
73. **Parrino L., Smerieri A., Boselli M., et al.** Sleep reactivity during acute nasal C-PAP in obstructive sleep apnea syndrome. *Neurology* 2000; 54: 1633-40.
74. **Parrino L., Ferrillo F., Smerieri A., Spaggiari M.C., Palomba V., Rossi M., Terzano M.G.** Is insomnia a neurophysiological disorder? The role of sleep EEG microstructure. *Brain Res. Bull.* 2004; 63 377-383.
75. **Patzold M. L., Richdale A.L., Tonge B. J.** An investigation into sleep characteristics of children with autism and Asperger's disorder. *J. Ped. Child Health* 1998; 34: 528-33.
76. **Rechtschaffen A., Kales A.** A manual of standardized terminology, techniques and scoring system for sleep stages of human subjects. *Washington Public Health service; US Government Printing Office; 1968.*

77. **Richdale A.L., Prior M.R.** The sleep/wake rhythm in children with autism. *Eur Child Adol Psychiatry* 1995; 4: 175-86.
78. **Richdale A.L.** Sleep in children with autism and Asperger syndrome. In Stores G. Wiggs L. eds. Sleep disturbance in children and adolescents with disorders of development: its significance and management. *Oxford: MacKeith Press, 2001: 181-95.*
79. **Rieger M., Mayer G., Gauggel S.** Attention deficit in patients with narcolepsy. *Sleep* 2003; 26; 36-43.
80. **Roizen N. J.** Down syndrome. *In: Batschaw ML, editor. Children with disabilities. 4th ed. Baltimore: Paul H. Books; 1997.*
81. **Schultz H., Wilde-Frenz J.** Symposium: cognitive processes and sleep disturbances: the disturbance of cognitive processes in narcolepsy. *J Sleep Res* 1995; 4: 10-14.
82. **Sforza E., Jouny C., Ibanez V.** Cardiac activation during arousal in humans: further evidence for hierarchy in the arousal response. *Clin Neurophysiol* 2000; 111: 1611-9.
83. **Shen Y., Olbrich E., Achermann P., Meier P. F.** Dimensional complexity and spectral properties of the human sleep EEG. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 2003 114 199-209.

84. **Smerieri A., Parrino L., Agosti M., Ferri R., Terzano M.G.** Cyclic alternating pattern sequence and non-cyclic alternating pattern periods in human sleep. *Clin. Neurophysiol.* 2007; 2305-2313.
85. **Spinnler H., Tognoni G.** Standardizzazione e taratura italiana di test neuropsicologici . *The Italian journal of neurological sciences*, 1987 suppl 8: 1-120.
86. **Stroop J.R.** Studies of interference in serial verbal reactions. *Journal Experimental Psychology* 1935; 18 643-662.
87. **Tani P., Lindberg N., Nieminen-von Wendt T., et al.** Insomnia is a frequent finding in adults with Asperger syndrome. *MBC Psychiatric* 2003; 3: 12.
88. **Tani P., Lindberg N., Nieminen-von Wendt T., et al.** Sleep in young adults with Asperger's syndrome. *Neuropsychobiology* 2004; 50: 147-52.
89. **Terry J. R., Anderson C., Horne J. A.** Nonlinear analysis of EEG during NREM sleep reveals changes in functional connectivity due to natural aging. *Hum. Brain Mapp.* 2004; 23: 73-84.
90. **Terzano M.G., Mancina D., Salati M. R., Costani G., Decembrino A., Parrino L.** The cyclic alternating pattern as a

physiological component of normal NREM sleep. *Sleep* 1985; 8: 137-45.

91. **Terzano M.G., Parrino L., Fioriti G., Spaggiari M.C., Piroli A.** Morphologic and functional features of cyclic alternating pattern (CAP) sequences in normal NREM sleep. *Funct. Neurol.* 1986; 1 (1): 29-41
92. **Terzano M.G., Parrino L., Spaggiari M. C.** The cyclic alternating pattern in the the dynamic organization of sleep. *Electroenceph Clin Neurophysiol.* 1988; 69; 437-447.
93. **Terzano M.G., Parrino L.** The cyclic alternating pattern (CAP) in human sleep. *Clinical Neurophysiology of Sleep Disorders Handbook of Clinical Neurophysiology* Vol 6 Chapter 8
94. **Terzano M.G., Parrino L.** Functional relationship between micro- and macrostructure of sleep. 1991 In: MG Terzano, P Halasz, DC Declerck (Eds.) *Fasic events and dynamic organization of sleep.* Raven Press, New York, pp. 101-119.
95. **Terzano M.G., Parrino L.** Evaluation of EEG cyclic alternating pattern during sleep in insomniacs and controls under placebo and acute treatment with zolpidem. *Sleep* 1992 15 (1) 64-70.

96. **Terzano M.G., Parrino L.** Clinic applications of cyclic alternating pattern. *Physiol Behav* 1993; 54: 807-813.
97. **Terzano M.G., Parrino L., Boselli M., Spaggiari M.C., Ferrillo F., Di Giovanni G.** The cyclic alternating pattern (CAP) as a physiological mechanism of EEG synchronization during NREM sleep. *J. Sleep Res., 1994, 3 (suppl. 1): 251.*
98. **Terzano M.G., Parrino L. Boselli M., et al.,** Polysomnographic analysis of arousal responses in obstructive sleep apnea syndrome by means of the cyclic alternating pattern (CAP). *J. Clin. Neurophysiol.* 1996; 13: 145-155.
99. **Terzano M.G., Parrino L.** Origin and significance of cyclic alternating pattern (CAP). *Sleep Med Rev* 2000; 4: 101-123.
100. **Terzano M.G., Parrino L., Boselli M., et al.** Cap components and EEG synchronization in the first three sleep cycles. *Clin Neurophysiol.* 2000; 111: 283-90
101. **Terzano M.G., Parrino L., Sherieri A., Chervin R., Chokroverty S., Guilleminault C., Hirshkowitz M., Mahowald M., Moldofsky H., Rosa A., Thomas R., Walters A.** Consensus report. Atlas, rules and recording techniques for the scoring of cyclic alternating pattern (CAP) in the human sleep. *Sleep Medicine* 2001; 2: 537-53

102. **Terzano M.G., Parrino L., Rosa A., Palomba V., Smerieri A.** CAP and arousals in the structural development of sleep: an integrative perspective. *Sleep Med.* 2002; 3: 221-229.
103. **Terzano M.G., Parrino L.** Editorial How knowledge of cyclic alternating pattern improves continuous positive airway pressure titration in the management of sleep disordered breathing. *Sleep Med.* 2002; 3: 297-298
104. **Terzano M.G., Parrino L. Spaggiari M. C.** Cap variables and arousals as sleep electroencephalogram markers for primary insomnia. *Clin Neurophysiol* 2003; 114: 1715-1723.
105. **Terzano M.G., Smerieri A., Del Felice A., Giglia F., Palomba V., Parrino L.** Cyclic alternating pattern (CAP) alterations in narcolepsy. *Sleep Med* 2006; XX: 1-8
106. **Thomas R. J.** Cyclic alternating pattern and positive airway pressure titration. *Sleep Med* 2002; 3: 315-322.
107. **Tononi G., Cirelli C.** Sleep and synaptic homeostasis: a hypothesis. *Brain Res. Bull.* 2003; (62) 143-150.
108. **Tononi G., Cirelli C.** Sleep and synaptic homeostasis: a hypothesis. *Sleep Med. Rev* 2006; 10 (1) 49-62.
109. **Townsend J. Westerfield M., Leaver E., Makeig S., Jung T., Pierce K., et al.** Event-related brain response abnormalities

in autism: evidence for impaired cerebello-frontal spacial attention networks. *Brain Res Cogn Brain Res* 2001; 11: 127-45.

110. **Vazquez J., Baghdoyan H. A.** Basal forebrain acetylcholine release during REM sleep is significantly greater than during waking. *Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol* 2001; 280: 598-601.
111. **Wechsler D.** Wechsler Intelligence Scale for Children – Revised. New York: The Psychological Corporation; 1973.
112. **Wechsler D.** Wechsler Adult Intelligence Scale-III. San Antonio, TX: The Psychological Corporation; 1997.
113. **Wood A. G., Saling M. M., Abbott D. F., Jackson G. D.** A neurocognitive account of frontal lobe involvement in orthographic lexical retrieval: an fMRI study. *NeuroImage* 2001; 14: 162-169.