



SAPIENZA
UNIVERSITÀ DI ROMA

Dottorato di ricerca in Neuroscienze Clinico-Sperimentali e Psichiatria

XXIX ciclo

TESI DI DOTTORATO

**Studio della plasticità maladattativa del tinnito cronico
attraverso metodiche psicofisiologiche**

Tutor

Prof.^{ssa} Patrizia Mancini

Candidato

Dott.^{ssa} Daniela Mannarelli

Triennio 2013/2016

INDICE

INTRODUZIONE.....	5
Il tinnito come modello di plasticità maladattativa.....	5
Aree cerebrali coinvolte da modificazioni maladattative nel tinnito cronico.....	7
Il modello biologico dei potenziali evocati evento-correlati.....	9
- <i>La componente N1</i>	11
- <i>La componente P300</i>	14
IL TONO SEROTONINERGICO NEL TINNITO CRONICO.....	19
Alterazioni del tono serotoninergico in corso di tinnito cronico.....	19
<u>Esperimento I</u> : La trasmissione serotoninergica nel tinnito: valutazione elettrofisiologica	
Scopo del lavoro.....	22
Materiali e Metodi.....	22
- Soggetti.....	22
- Procedura.....	23
- Valutazione elettrofisiologica.....	23
<i>IDAP</i>	23
<i>ABR</i>	24
- Analisi Statistica.....	25
Risultati.....	25
Discussione.....	26
Figura.....	30
DISFUNZIONI CORTICALI IN CORSO DI TINNITO CRONICO.....	31
I disturbi cognitivi nel tinnito cronico.....	31
<u>Esperimento II</u> : Il processamento attentivo dello stimolo acustico nei soggetti con tinnito cronico	
Scopo del lavoro.....	35
Materiali e Metodi.....	35
- Disegno dello studio.....	35
- Soggetti.....	35
- Procedura.....	37
- Valutazione ERP.....	37
<i>Task Novelty P300</i>	37
<i>Registrazione EEG</i>	38
- Analisi ERP.....	38
- Analisi Statistica.....	39
Risultati.....	40
- ERP.....	40
<i>Componente P3</i>	40
<i>Risultati addizionali: componente N1</i>	41
- Performance.....	41
- Correlazioni.....	42
Discussione.....	42

Tabella	47
Figure.....	48
CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE.....	50
APPENDICE.....	53
Meccanismi di plasticità maladattativa nel tinnito.....	53
- Meccanismi di plasticità intrinseca	53
- Meccanismi di plasticità strutturale	54
BIBLIOGRAFIA.....	57

ELENCO ABBREVIAZIONI

- 5-HT: 5-Hidrossi-Triptamina (serotonina)
- ABR: Auditory Brainstem Responses
- AEP: Auditory Evoked Potentials
- AMPA: Ammino-3-idrossi-5-Metil-4-isossazol-Propionico Acid
- ANT: Attention Network Task
- ASF: Amplitude/stimulus function
- BAEP: Brainstem Auditory Evoked potential
- BDI: Beck Depression Inventory
- CCA: corteccia cingolata anteriore
- CI: Collicolo Inferiore
- CNV: Contingent Negative Variation
- EEG: Elettroencefalogramma
- EOG: Elettro-oculogramma
- EPSP: Excitatory Postsynaptic Potential
- ERPs: Event-related potentials
- fMRI: Functional Magnetic Resonance Imaging
- GABA: Gamma-Amino-Butirric Acid
- IA: Insula Anteriore
- IDAP: Intensity Dependence of Auditory Evoked Potential
- LLR: Long-Latency Responses
- MLR: Mid-Latency responses
- MMN: Mismatch Negativity
- MMSE: Mini Mental State Examination
- NC: Nucleo Cocleare
- NDR: nucleo dorsale del rafe
- RM: Risonanza Magnetica
- rTMS: repetitive Transcranial Magnetic Stimulation
- SNC: Sistema Nervoso Centrale
- SSRI: Selective Serotonin reuptake inhibitor
- ST: Soggetti con Tinnitus
- STAI: State-Trait Anxiety Inventory
- tDCS: transcranial Direct Current Stimulation
- THI: Tinnitus Handicap Inventory

INTRODUZIONE

Il tinnito come modello di neuroplasticità maladattativa

Il tinnito (dal latino “*tinnire*”, suonare) è definito come una percezione acustica non strutturata (fischi, ronzii, fruscii) che si configura in assenza di una sorgente sonora fisica interna o esterna (Eggermont, 2004). Il tinnito è quindi un esempio di “percepto fantasma” (ossia una percezione conscia in assenza di uno stimolo esterno) che compare nell’ambito della modalità uditiva, così come la percezione dell’arto fantasma o il dolore dell’arto fantasma costituiscono esempi di “percepto fantasma” nella modalità somatosensoriale (De Ridder et al., 2011).

La comparsa del tinnito è solitamente associata a cause reversibili che si accompagnano a una condizione di ipoacusia neurosensoriale transitoria, come l’ascolto di musica ad alto volume, stati febbrili, uso di farmaci ototossici o temporanee perturbazioni dell’orecchio medio, cessando in un periodo variabile da pochi secondi ad alcuni giorni (Eggermont, 2004). Tuttavia, nel 5-15% della popolazione rappresenta un disordine cronico (Heller, 2003). La forma cronica prevale maggiormente nell’età senile (12% dopo i 60 anni), piuttosto che nei giovani adulti (5% tra i 20-30 anni) (Heller, 2003). Nell’1-3% della popolazione generale, la sensazione del tinnito è tale da alterare la qualità della vita, causando disturbi del sonno, riduzione della capacità lavorativa, ansia, depressione, deficit esecutivi e attentivi e difficoltà nel processamento dell’informazione (Andersson et al., 2006).

Le prime ipotesi fisiopatologiche alla base del tinnito ne sostenevano una genesi “*periferica*” e ritenevano che tale sintomo fosse il risultato di un’alterata attività neurale generata nella periferia del sistema uditivo, in particolare un aumento del firing del nervo cocleare. Tuttavia, studi successivi, che riportavano iperattività e ipersincronia nell’ambito del sistema nervoso centrale (SNC) a seguito di una lesione del nervo cocleare, hanno condotto all’ipotesi della

genesì “*centrale*” del tinnito, basata su meccanismi di neuroplasticità cerebrale (Norena et al., 2013).

Il tinnito, in effetti, è verosimilmente il risultato di una plasticità maladattativa del SNC che consegue ad un iniziale danno a carico delle strutture periferiche (coclea, nervo cocleare) e che comporta cambiamenti neuronali sia strutturali che funzionali nelle strutture centrali.

In particolare, si ritiene che il danno periferico, indipendentemente dalla causa (trauma, infezioni, farmaci ototossici), comporti una deprivazione sensoriale verso il sistema uditivo centrale. Nel tentativo di preservare l'efficienza di codifica degli stimoli acustici si attivano, quindi, dei meccanismi di compenso espressione di una plasticità neuronale che modifica la sensibilità dei neuroni centrali rendendoli iperattivi e quindi responsivi anche a stimoli di bassa intensità (Norena, 2011; Turrigiano, 2011). Si configura, cioè, un processo di “*central gain*” compensatorio o di adattamento (Norena et al., 2013) che passa attraverso meccanismi di *plasticità intrinseca* (cambiamenti attività-dipendenti delle proprietà intrinseche di eccitabilità dei neuroni) e di *plasticità strutturale* (che comprende cambiamenti nella struttura dei neuroni e delle reti neuronali, compresa la formazione di nuove cellule nervose ossia la neurogenesì) (Vedi APPENDICE).

Aree cerebrali coinvolte da modificazioni maladattative nel tinnito cronico

I cambiamenti funzionali e ultrastrutturali appena enunciati e considerati alla base della plasticità maladattativa del tinnito cronico si riscontrano principalmente a carico delle strutture costituenti il pathway uditivo primario (Vogler et al., 2011; Norena et al. 2013) come il nervo cocleare, il nucleo cocleare (NC) dorsale troncoencefalico, il collicolo inferiore (CI) e l'area uditiva primaria.

La serotonina (5-Hidrossi-Triptamina: 5-HT) costituisce uno dei neurotrasmettitori più rappresentati nel contesto dei sistemi sensitivi e, in particolare, delle aree uditive primarie (Johnson et al., 1998; Simpson e Davies, 2000). Sulla base di una delle ipotesi biochimiche centrali nella fisiopatologia del tinnito si ritiene, infatti, che una disfunzione del tono serotoninergico possa interferire a uno o più livelli del pathway uditivo primario e possa così contribuire alla genesi e alla cronicizzazione del tinnito (Baguley, 2002; Simpson e Davies, 2000). In particolare, un ridotto tono serotoninergico potrebbe modulare i processi di plasticità maladattativa sia strutturale che funzionale tipici del tinnito in queste aree (Simpson e Davies, 2000).

Recenti lavori hanno suggerito che i meccanismi di neuroplasticità maladattativa coinvolgono anche le corteccie associative implicate nell'espletamento di funzioni cognitive complesse. Studi di fMRI hanno infatti descritto un'abnorme attività neurale in numerose aree non-uditive come l'insula anteriore (IA) (Mirz et al., 2000; Sadaghiani et al., 2009) e le corteccie cingolate (Mirz et al., 1999; Weisz et al., 2005). L'abnorme attivazione di queste regioni è stata interpretata come il risultato di un potenziamento dell'attività neurale dovuta alla necessità di allocare le risorse attentive contemporaneamente sia al tinnito che agli stimoli task-relevant. Carpenter-Thompson et al. (2015) riportano ulteriori anomalie nel funzionamento delle corteccie frontali, in particolare nei soggetti affetti da tinnito per periodi superiori ad 1 anno. Inoltre, un'alterazione dei circuiti talamo-corticali, ossia una disritmia talamo-corticale (De Ridder et al., 2007), è stata rilevata così

come un abnorme funzionamento di strutture sottocorticali come il cervelletto (Shulman et al., 1999). Il cervelletto, in particolare, è stato indicato come un possibile generatore dei sintomi uditivi fantasma (Bauer et al., 2013).

Il tinnito sembra associarsi anche a cambiamenti nella connettività strutturale e funzionale tra aree corticali e sottocorticali con possibili alterazioni nel funzionamento di specifici network cerebrali sia emozionali che attentivi (Burton et al., 2012; Maudoux et al., 2012) così da giustificare i correlati sintomatologici psichiatrici e cognitivi dei soggetti affetti da tinnito cronico. Alterazioni nella connettività funzionale sono state rilevate, ad esempio, tra la corteccia cingolata anteriore (CCA) e il lobo frontale destro, aree queste ampiamente riconosciute nel funzionamento attentivo (Coull et al., 2001; Corbetta et al., 2002). Inoltre, cambiamenti nella distribuzione topografica dei fronti di depolarizzazione, messi in relazione con il grado di ansia e malessere associato alla percezione del tinnito, sono stati rilevati nel contesto di un ampio network costituito dal lobo temporale mediale (amigdala e ippocampo), l'area paraippocampale, l'IA e la CCA sottogenicolata e dorsale. Il distress di questi soggetti è stato inoltre correlato con la riduzione del ritmo *tau* (ritmo alfa "uditivo" della corteccia temporale) e l'aumento del ritmo *delta*, soprattutto nelle aree temporale destra e frontale sinistra (Weisz et al., 2005).

Il modello biologico dei potenziali evocati evento-correlati

I Potenziali Evocati Evento-Correlati (Event-related potentials - ERPs) rappresentano una misura elettroencefalografica dell'attività cognitiva in tempo reale e costituiscono uno degli strumenti di studio principali nell'ambito della psicofisiologia. Gli ERPs esprimono una misura puntuale del processamento attentivo di uno stimolo indicandone la ricezione e la successiva elaborazione riflettendo processi cognitivi complessi come l'attenzione involontaria e selettiva, il context-updating, la discriminazione esecutiva con il controllo inibitorio, fino ai processi di programmazione motoria o di comprensione semantica (Luck e Kappenman, 2012). Costituiscono, pertanto, uno strumento di studio non invasivo, con eccezionale risoluzione temporale, dei processi cognitivi fisiologici e possono essere utilizzati per valutare le disfunzioni cognitive in condizioni patologiche (Picton et al., 2000; Kotchoubey 2006; Luck e Kappenman, 2012).

Gli ERPs sono distinti in relazione ai paradigmi e alle modalità specifiche di stimolazione in complessi positivi o negativi elicitati da un compito di discriminazione tra stimoli provvisti, per accordo, di significato specifico per il soggetto (Luck e Kappenman, 2012). Sono subordinati al contenuto informativo dello stimolo e alla sua significatività, indipendentemente dalle caratteristiche fisiche, e appaiono solo quando il soggetto presta attenzione allo stimolo che, per convenzione, è indicato come significativo; vincolante è anche lo stato del soggetto, ovvero il livello di veglia, la direzione dell'attenzione, la memoria, le aspettative e le motivazioni.

Quindi, è possibile individuare specifiche componenti ERPs, che riflettono una sequenza di processi serialmente attivati, rappresentati sullo scalpo come fluttuazioni positive e negative dell'attività elettrica cerebrale, classificate in base alla loro distribuzione sullo scalpo e alla risposta a variabili sperimentali. Ogni componente può, infatti, essere quantitativamente caratterizzata attraverso tre dimensioni (Luck 2005): *l'ampiezza*, data dall'entità della deflessione (1-30 μ V) rispetto alla linea di base, che indica l'entità dell'allocazione delle risorse

neurali in uno specifico processo cognitivo; la *latenza*, ovvero l'intervallo di tempo tra la presentazione dello stimolo e la comparsa del picco di ampiezza della componente, che rappresenta una traccia temporale di una specifica attività cognitiva nel corso del processamento attentivo; la *distribuzione topografica* sullo scalpo, che fornisce il pattern del gradiente di voltaggio delle componenti lungo lo scalpo, istante per istante, ed è indicativa della sottostante attività neurale.

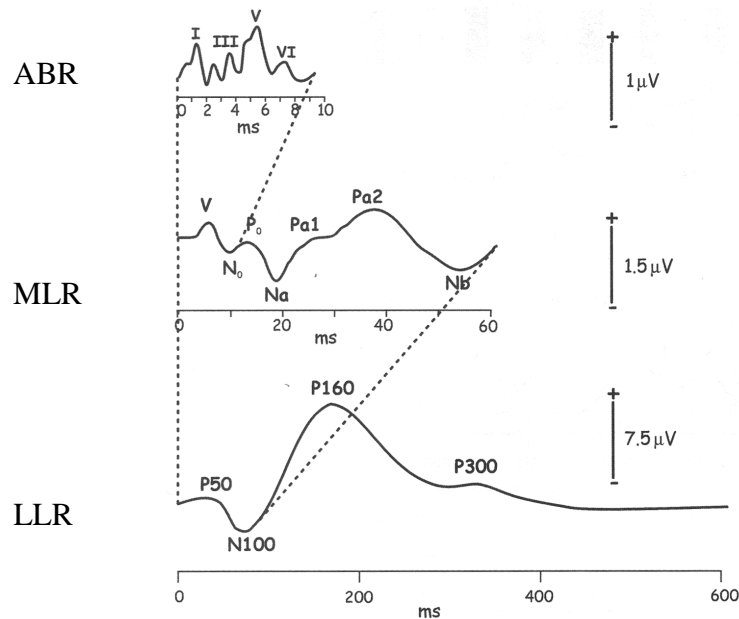
L'attività elettrica misurata dagli ERPs è verosimilmente legata alla sommazione temporale e spaziale dei potenziali post-sinaptici dei neuroni attivati durante lo specifico compito cognitivo. Essi rappresentano così una misura diretta dell'attività neurale e in particolare dei flussi neurotrasmettitoriali implicati nella genesi delle singole funzioni cognitive (Kotchoubey 2006; Luck e Kappenman, 2012).

Lungo l'asse temporale del processamento attentivo dello stimolo acustico durante uno specifico task cognitivo è possibile rintracciare differenti risposte evocate o componenti o *Auditory Evoked Potentials* (AEPs) (vedi figura allegata di seguito).

Un primo set di componenti emerge entro i primi 10 ms dalla comparsa dello stimolo acustico e riflette il flusso dell'informazione dalla coclea attraverso il tronco-encefalo fino al talamo. Queste risposte evocate uditive tronco-encefaliche (Auditory Brainstem Responses – ABR) sono tipicamente identificate con numeri romani sequenziali (onde I-VI). Si tratta di componenti automatiche che possono essere usate per stimare l'integrità del pathway uditivo. Le ABR sono seguite dalle componenti di media latenza (Mid-Latency responses – MLRs; definite come risposte evocate tra i 10 e i 50 ms) che sono tipicamente correlate all'attività del CI e del talamo e che sono solo parzialmente influenzate dall'attenzione. Le MLRs sono seguite delle componenti a lunga latenza (Long-Latency Responses - LLR) che comprendono un ampio range di risposte, la componente P50, N100 (N1), P200 (P2), P300 (P3), N400 fino a potenziali

complessi come la Contingent Negative Variation (CNV). I potenziali a lunga latenza, specificamente denominati ERPs, riflettono processi cognitivi serialmente integrati e sono fortemente influenzati dall'attenzione.

Di seguito verranno descritte la componente N1 e il suo indice derivato IDAP e la componente P300.



Sequenza dei Potenziali evocati uditivi – da Luck 2005

La componente N1

La componente N1 è una risposta ERP obbligata espressione dell'iniziale percezione dello stimolo con reindirizzamento automatico del focus attentivo (Näätänen et al., 2011). Si tratta di una componente che risulta particolarmente sensibile agli effetti di refrattarietà (Naatanen et al., 2011). Un suono ripetuto pur con frequenza elevata elicitava una N1 di bassa ampiezza, mentre gli eventi uditivi salienti elicitano una N1 di ampiezza considerevolmente maggiore. Il picco della N1 si colloca generalmente tra 80-140 ms e si identifica con ampiezza variabile sulle differenti aree dello scalpo.

Si ritiene che la componente N1 possa rappresentare l'attività sincrona dei neuroni che filtrano lo stimolo rilevante rispetto a quello irrilevante nello stadio del processamento pre-attentivo o automatico (Näätänen et al., 2011). E' verosimile che questa componente sia composta da un overlap di subcomponenti generate sia dalle corteccie uditive primarie che in corteccie associative come le aree frontali (Naatanen et al., 1987; Alcaini et al., 1994). In particolare, tenendo conto dell'elevata rappresentazione di neuroni serotoninergici nella corteccia uditiva primaria è accettata la stretta associazione tra la componente N1 (in particolare il complesso N1/P2) e la trasmissione serotoninergica centrale.

Intensity Dependence of Auditory Evoked Potential (IDAP)

La relazione tra neurotrasmissione serotoninergica e le componenti N1/P2 degli AEP è stata confermata da diversi studi (Hegerl e Juckel, 1993; Juckel et al., 1999). La regressione lineare che rappresenta la stima del valore atteso dell'ampiezza (ampiezza picco/picco N1/P2) in funzione dello stimolo (funzione ampiezza/stimolo – Amplitude/stimulus function, ASF), alle varie intensità di stimolo (N1/P2 ASF slope), è stata definita Intensity Dependence of Auditory Evoked Potential (IDAP) o Loudness Dependence of Auditory Evoked Potentials (Hegerl e Juckel, 1993).

E' stato osservato che le efferenze serotoninergiche corticali provenienti dal nucleo dorsale del rafe magno (NDR) (nucleo caratterizzato da neuroni 5-HT) sono caratterizzate da scariche pacemaker (Jacobset al., 1992) e che la neurotrasmissione 5-HT è compatibile con la modulazione tonica dell'attività corticale della corteccia uditiva primaria. Poiché un'iperattivazione corticale (con l'aumento dell'intensità di uno stimolo) potrebbe essere dannosa, un'aumentata attività 5-HT potrebbe inibire una eccessiva attività neurale. Hegerl e Jukel (1993) hanno proposto che i neuroni NDR forniscono una preattivazione tonica alla corteccia uditiva primaria e che una bassa preattivazione 5-HT, collegata ad un'ipoattività del

sistema 5-HT, potrebbe essere associata a un valore di IDAP più elevato rispetto a quando la preattivazione è maggiore, e si riflette in un valore di IDAP minore (Mulert et al., 2005).

Diversi studi hanno confermato negli anni il concetto di IDAP come indicatore dell'attività del centro della neurotrasmissione serotoninergica. Hegerl e Juckel hanno dimostrato come in seguito alla riduzione dell'attività serotoninergica indotta farmacologicamente, ci fosse un incremento dell'ampiezza degli AEP con l'aumentare dell'intensità dello stimolo acustico. Juckel et al. (1999) hanno riportato gli effetti differenziali di microiniezioni di un agonista 5-HT_{1A} e un antagonista 5-HT_{1A} nel NDR sull>IDAP registrato a livello epidurale sulla corteccia uditiva primaria e secondaria in relazione al diverso comportamento di gatti (Juckel et al., 1999). In uno studio sperimentale successivo è stato individuato un polimorfismo funzionale nella regione del promotore del gene trasportatore della serotonina (5-HTTLPR) da associare con l'ampiezza N1/P2 dell>IDAP (Strobel et al., 2003) e questo risultato è stato recentemente replicato da Hensch et al. (2006).

Il ruolo dell>IDAP è stato studiato in diversi campi di ricerca psichiatrica: Tuchtenhagen et al. (2000) hanno riportato un IDAP elevato in pazienti in crisi di astinenza da ecstasy (MDMA), e ciò indicava una diminuzione dell'attività serotoninergica (Tuchtenhagen et al., 2000). Juckel et al. (2003) hanno invece rilevato un IDAP ridotto in pazienti schizofrenici. Tale valore tendeva a normalizzarsi a seguito di un trattamento con antipsicotici 5-HT antagonisti come Clozapina e Olanzapina (Juckel et al., 2003). Nei pazienti depressi in trattamento con farmaci inibitori della ricaptazione della serotonina (Selective Serotonin reuptake inhibitor - SSRI) Hegerl et al. (1998) hanno rilevato che i punteggi più alti nella scala della sindrome serotoninergica (SSS) erano associati ad un basso IDAP e viceversa (Hegerl et al., 1998).

Recenti indagini hanno segnalato un indebolimento o un ridotto IDAP dopo l'aumentato rilascio sia acuto che cronico dei livelli di serotonina conseguente a somministrazione di farmaci SSRI (Nathan et al., 2006; Linka et al., 2009) in volontari sani e ciò fornisce una diretta evidenza

di una relazione inversa tra la trasmissione serotoninergica e il valore IDAP (O'Neill et al., 2006).

Ulteriori conferme emergono anche dagli studi condotti sull'emicrania. È stato osservato che i pazienti con emicrania presentano, durante il periodo interictale, una mancata "habituation", ossia una mancata riduzione dell'ampiezza del potenziale in risposta alla ripetizione di stimoli di uguale intensità, o addirittura un potenziamento della risposta (Ozkul e Uckardes, 2002). Questo fenomeno è stato inversamente correlato ad un'altra anomalia elettrofisiologica riscontrata in questa categoria di pazienti, ossia un marcato aumento dell'IDAP, con un potenziamento della componente N1-P2 che invece risulta ridotta o stabile nei controlli. Il ruolo del sistema serotoninergico nel fenomeno dell'abituazione sembra essere tra l'altro suggerito dalla scomparsa del suo deficit durante il trattamento con fluoxetina, farmaco che inibisce il reuptake della serotonina (Ozkul e Bozlar, 2002).

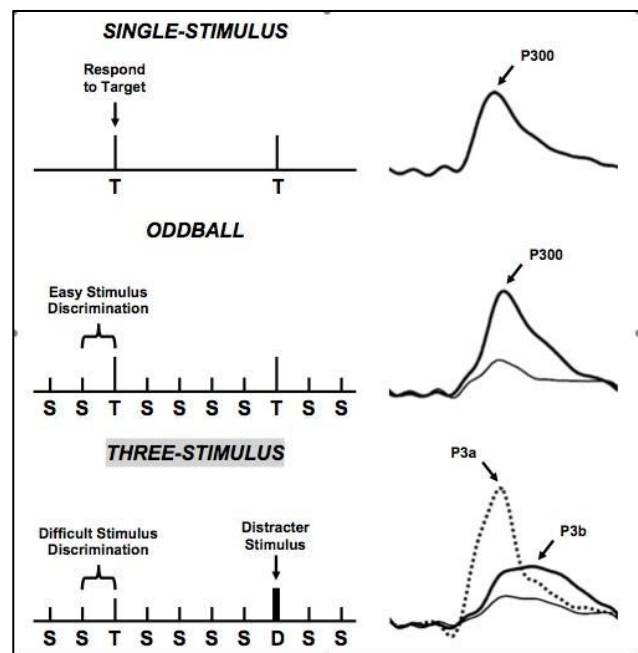
La componente P300

La P300 è un potenziale positivo a lunga latenza (tra 300-350 ms) che riflette l'attività discriminativa del soggetto di fronte ad uno stimolo rilevante (target), che può essere di origine uditiva, visiva o somato-sensoriale (Luck e Kappenman, 2012). La latenza di questo potenziale è un utile indicatore della velocità con cui viene valutata la discriminazione sensoriale a livello cerebrale. Scoperta da Sutton circa 50 anni fa (Sutton, 1965), la P300 è considerata un fenomeno neuroelettrico cognitivo poiché viene elicitata in task in cui il soggetto attende e discrimina stimoli che differiscono l'uno dall'altro per una qualche caratteristica fisica.

E' classicamente evocata durante un paradigma oddball caratterizzato da una sequenza di due stimoli, uno (standard) che occorre più frequentemente dell'altro (target); al soggetto è richiesto di distinguere lo stimolo infrequente (target) da quello frequente (standard) premendo un pulsante o contando mentalmente ogni stimolo target (task-relevant). In seguito allo stimolo

target si avrà la registrazione della componente P300 (o P3b) che apparirà come una deflessione positiva a lunga latenza (300-350 ms) con una distribuzione sullo scapo centro-parietale, massima sulla linea mediana e riflettente l'attività discriminativa del soggetto di fronte ad uno stimolo saliente e significativo (target). La P300 può essere utilizzata come un indice della funzione attentiva (Knight, 1991), poiché la sua ampiezza può essere modulata dall'attenzione (Hillyard, 1973; Squires et al., 1975; Coull et al., 1998).

Quando nel contesto di questo task viene inserito un terzo tipo di stimolo, infrequente, inatteso e distrattore (novel) si evidenzia la comparsa di un potenziale positivo con una distribuzione più anteriore e massima ampiezza a livello fronto-centrale. Tale componente presenta un picco di latenza più breve rispetto a quello della P3b, situato a circa 250 ms, (Courchesne et al., 1975;



Knight, 1984) e un aspetto più fasico, con un rapido ritorno verso la linea di base. E' denominata "P3a" o "novelty P3" per distinguerla dalla componente task-relevant "P3b" elicitata durante il processamento dello stimolo target (Squires et al., 1975; Snyder e Hillyard, 1976). E' stata interpretata in termini di attività del lobo frontale correlata all'ippocampo (Courchesne et al., 1975; Knight, 1984) e si associa a un reindirizzo dell'attenzione e a meccanismi di switching attentivo (Fabiani e Friedman, 1995; SchroÈger et al., 2000).

Studi precedenti su questo potenziale ne hanno rilevato quattro importanti caratteristiche. In primo luogo, le risposte P3a vanno incontro ad abituazione dopo presentazioni successive di stimoli novel identici, indicando che più questi stimoli diventano prevedibili, più l'entità della risposta di orientamento si riduce (Knight, 1984; Ranganath e Paller, 1999). In secondo luogo, le

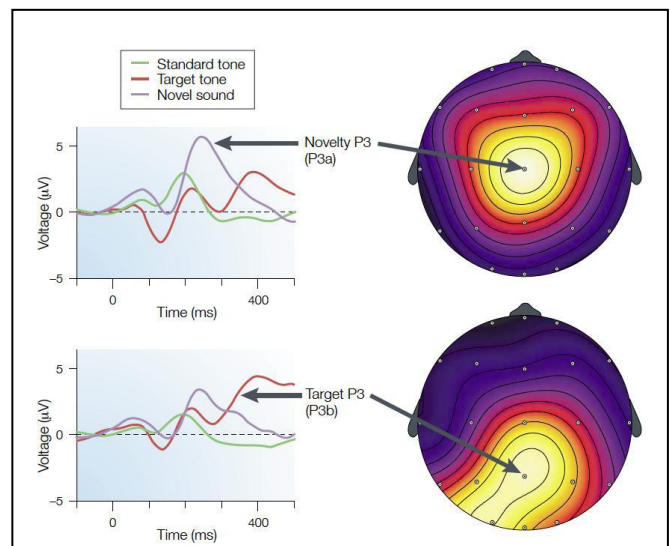
risposte P3a non sono legate ad alcuna particolare modalità sensoriale: risposte P3a simili sono state osservate dopo stimolazione visiva, uditiva e somatosensoriale (Knight, 1996; Knight, 1997). In terzo luogo, anche se la P3a è tipicamente meglio elicitata da suoni complessi, un potenziale simile può essere ottenuto con stimoli semplici, a condizione che siano contestualmente devianti (Simons et al., 2001). Quarto, nonostante la manipolazione del task possa influenzare l'entità della P3a, uno stimolo può elicitare una P3a robusta anche se è irrilevante ai fini del task (Courchesne et al., 1975) o se viene ignorato (Squires et al., 1975; Ranganath e Paller, 1999; Friedman et al., 1998). La precocità della latenza della P3a, insieme con le caratteristiche funzionali sopra descritte, indicano che la novelty P3 riflette l'attività di una rete neurale deputata a un orienting rapido (Ranganath e Rainer, 2003).

I generatori neurali della P300 non sono stati delineati con esattezza. Il fatto che la P300 possa essere individuata simultaneamente e con latenza uniforme su aree diffuse dello scalpo (Soltani e Knight, 2000), ha suggerito che possa essere prodotta da generatori multipli e relativamente indipendenti, o che sia il riflesso di un sistema centrale integrato dotato di connessioni diffuse a livello cerebrale (Duncan, 2003; Nieuwenhuis et al., 2005). I principali generatori della P300 sembrano localizzati a livello dell'ippocampo, del solco temporale superiore, della corteccia prefrontale ventrolaterale e probabilmente del solco intraparietale (Smith et al., 1990; Halgren et al., 1998). Le suddette conclusioni sono state raggiunte attraverso lo studio di pazienti con lesioni del lobo frontale, che evidenziavano simultaneamente una riduzione dell'ampiezza della P3a e un'ampiezza massima della P3b a livello parietale, a dimostrazione che l'integrità del lobo frontale fosse un presupposto necessario per la generazione della P3a (Knight, 1984).

Sembra inoltre che l'ampiezza della P300 sia subordinata all'integrità della giunzione temporo-parietale tanto che, nel caso in cui sia pregiudicata, si evidenzia una consistente riduzione del potenziale a livello parietale (Yamaguchi e Knight, 1992). Tali evidenze

suggeriscono globalmente che le due componenti P3a e P3b siano generate nel contesto di un complesso sistema corticale e sottocorticale che connette aree cerebrali frontali e temporo-parietali (Soltani e Knight, 2000; Polich e Comerchero, 2003), così che la possibilità di generare la P300 è subordinata all'integrità dello stesso (Nieuwenhuis et al., 2005). Più specificamente si ritiene che le componenti P300 possano essere correlate al funzionamento dei due network attentivi, il network attentivo fronto-parietale dorsale e il network attentivo fronto-parietale ventrale (Corbetta e Shulman, 2002; Corbetta et al., 2008). Mentre il network attentivo dorsale orienta l'attenzione verso l'ambiente esterno mandando segnali top-down, il network attentivo ventrale rintraccia cambiamenti salienti e agisce come sistema di allerta o "circuit-breaker" per il sistema dorsale (Corbetta et al., 2008). Le aree principalmente implicate nel funzionamento del network attentivo dorsale sono la corteccia parietale dorsale, con il solco intraparietale e il lobulo parietale superiore, e la corteccia frontale dorsale lungo il solco precentrale, in corrispondenza del campo visivo frontale. Il network attentivo ventrale include la giunzione temporo-parietale, la parte ventrale del giro sopramarginale e la corteccia frontale ventrale, incluse porzioni del giro frontale medio (MFG), del giro frontale inferiore, l'opercolo frontale e l'insula anteriore.

In particolare mentre la P3a evocata da stimoli salienti e legata a processi di switching attentivo sembra essere correlata all'attivazione delle aree frontali del network attentivo ventrale, la P3b è più strettamente associata all'attività temporo/parietale del network attentivo dorsale correlata con il context-updating e il processo di memory



storage (Polich, 2007; Kim, 2014). E' verosimile che, dal momento che lo stimolo target è saliente e significativo, esso sia in grado di attivare entrambi i network attentivi che cooperano a identificare e immagazzinare gli stimoli (Kim, 2014).

Anche i sistemi neurotrasmettitoriali alla base della P300 sono ancora poco chiari sebbene i dati disponibili facciano ritenere possibile che i processi frontali implicati nella P3a siano fondamentalmente dopaminergici (Stanzione et al., 1991) mentre quelli parietali implicati nella P3b siano da mettere in relazione alla noradrenalina e all'attività del locus coeruleus.

IL TONO SEROTONINERGICO NEL TINNITO CRONICO

Alterazioni del tono serotoninergico in corso di tinnito cronico

La disfunzione della trasmissione serotoninergica a carico di uno o più livelli del SNC è stata dimostrata in corso di tinnito cronico (Simpson e Davies, 2000). In particolare, si ritiene che l'alterazione del tono serotoninergico possa determinare una ridotta capacità di filtro delle informazioni sensoriali e deficit di abituazione al sintomo fantasma (Simpson e Davies, 2000; Baguley, 2002).

La 5-HT costituisce un importante neurotrasmettitore e ad oggi sono state isolate almeno 15 isoforme recettoriali (Barnes e Sharp, 1999). I recettori, ampiamente distribuiti nel SNC, sono raggruppati in 7 famiglie sulla base delle loro proprietà farmacodinamiche e farmacocinetiche. Inoltre, numerosi lavori sperimentali hanno dimostrato che i neuroni serotoninergici sono maggiormente presenti nei nuclei uditivi del SNC come il NC, il CI, il nucleo del lemnisco laterale (Thompson et al., 1994) e il complesso olivare superiore (Woods and Azeredo, 1999). In particolare, i recettori 5-HT_{1A} sono stati identificati nel NC e nel CI così come importante è la rappresentazione dei recettori 5-HT_{1A} e 5-HT₂ anche nella corteccia uditiva primaria (Andorn et al., 1989). In genere il soma dei neuroni serotoninergici è tipicamente collocato in aree esterne al sistema uditivo primario (Thompson et al., 1994) come in particolare il nucleo del rafe magno. Si ritiene che tali neuroni agiscano attraverso un processo di "autoregolazione" (Simpson e Davies, 2000). Essi ricevono input eccitatori glutamatergici che sono poi inibiti dall'attivazione cross-talk dei recettori inibitori presinaptici 5-HT_{1B} (Li e Bayliss, 1998). Attraverso tali recettori la trasmissione serotoninergica appare in grado di regolare gli input eccitatori efferenti e più in generale di modulare il processo di abituazione verso gli stimoli acustici nel contesto del pathway uditivo (Simpson e Davies, 2000).

Precedenti studi sperimentali hanno dimostrato che mutazioni geniche associate a mancata espressione dei recettori 5-HT_{2C} incrementano la probabilità di crisi epilettiche triggerate da stimoli acustici o audiogeniche (Brennan et al., 1997; Applegate e Tecott, 1998), mentre il blocco farmacologico dei recettori 5-HT₇ induce un effetto protettivo (Bourson et al., 1997). Inoltre, l'alterazione dei pathway serotoninergici è stata correlata con la compromissione dei processi di apprendimento (Lister et al., 1996). Sono queste delle evidenze di come l'alterazione della trasmissione serotoninergica, che interviene nel processamento degli stimoli acustici, possa comportare la perdita della capacità di filtro degli stimoli stessi compromettendone il processo di abituação (Lister et al., 1996; Simpson e Davies, 2000).

Inoltre, la trasmissione serotoninergica centrale si ritiene sia implicata in numerosi processi fisiologici che sono comunemente alterati in corso di tinnito cronico. Tra questi rientrano i disturbi del sonno, l'avversione al rumore e l'eccessiva reattività in condizioni di stress psico-fisico (Simpson e Davies, 2000). In effetti, la 5-HT è un neurotrasmettitore comunemente coinvolto nell'induzione e nel mantenimento dello stato di sonno (Morgane, 1981) e questo potrebbe spiegare la ragione per la quale il tinnito risulta spesso accompagnato da insonnia. I recettori 5-HT_{1A} e 5-HT₂ sembrano modulare anche i comportamenti di evitamento agendo tipicamente nel contesto del CI (Melo e Brandao, 1995).

La 5-HT costituisce anche uno dei principali neurotrasmettitori del sistema limbico implicato nel controllo delle situazioni di stress e più in generale al processamento delle emozioni (Pike et al., 1995). Lo stress psico-fisico ed emozionale costituisce una delle condizioni che tipicamente si associa al tinnito, esacerbandolo, probabilmente a causa di un'interazione funzionale tra le strutture uditive e limbiche. Inoltre, l'alterazione della trasmissione serotoninergica è stata anche associata a iperacusia e a condizioni di depressione/anedonia in corso di tinnito (Marriage e Barnes, 1995; Geyer e Vollenweider, 2008).

L'IDAP è una metodica elettrofisiologica proposta da Hegerl e Juckel nel 1993 e considerata in grado di misurare il tono serotoninergico centrale (Hegerl e Juckel, 1993). In particolare, questi autori hanno identificato nella pendenza (N1/P2 ASF slope) della regressione lineare tra l'intensità degli stimoli acustici e le ampiezze delle risposte N1/P2 evocate un indice indiretto dell'attività serotoninergica centrale. Tanto più elevato è il valore della pendenza (N1/P2 ASF slope) o IDAP tanto più basso è il livello di attività serotoninergica centrale (Hegerl e Juckel, 1993).

Precedenti studi sperimentali non hanno fornito risultati univoci in relazione ad eventuali variazioni del parametro IDAP in presenza di sintomi uditivi fantasma (Norena et al., 1999; Kadner et al., 2002; Lee et al., 2007). In particolare, alcuni lavori hanno identificato una differenza nelle risposte correlate all'intensità dello stimolo acustico (sia la latenza N1 che l'ampiezza picco-picco N1-P2) tra soggetti con tinnito e controlli sani sia a 2000 che 4000 Hz (ossia le frequenze ai limiti delle frequenze per le quali si era rilevata ipoacusia), che a 1000 Hz di stimolazione (Norena et al., 1999). Uno studio analogo, condotto in soggetti con tinnito idiopatico ha mostrato una differenza significativamente statistica nell'ampiezza N1-P2 nei siti fronto-centrali, suggerendo, in questi soggetti, la presenza di risposte ridotte all'incrementare dell'intensità del suono e una più debole dipendenza delle risposte all'intensità del suono (Lee et al., 2007).

ESPERIMENTO I: La trasmissione serotoninergica nel tinnito: valutazione elettrofisiologica

Scopo del lavoro

Lo scopo del presente lavoro è stato quello di indagare attraverso un approccio elettrofisiologico basato sull'uso dell'IDAP le possibili alterazioni serotoninergiche riscontrabili in presenza di tinnito.

[L'esperimento è stato oggetto della seguente pubblicazione in estenso:

Cartocci G, Attanasio G, Fattapposta F, Locuratolo N, **Mannarelli D**, Filippo R. An electrophysiological approach to tinnitus interpretation. *Int Tinnitus J* 2012; 17(2): 152-7. doi: 10.5935/0946-5448.20120027.]

MATERIALI E METODI

Soggetti

38 soggetti con tinnito sono stati arruolati (soggetti con tinnito (ST): 22; controlli: 16) nello studio. I criteri di inclusione erano costituiti da: intervallo di età variabile tra 18 e 65 anni; sesso maschile; soggetti normoacusici (soglia uditiva sopra i 20 dB HL) secondo i parametri del test audiometrico standard che prevede frequenze comprese tra 0.125 e 8 kHz; assenza di iperacusia come indicato dalla misura del range dinamico; periodo di insorgenza del tinnito non superiore ai due anni. I criteri di esclusione erano rappresentati da: anamnesi positiva per patologie psichiatriche come stabilito dal DSM-IV o per neuropatie; storia di abuso di sostanze psicotrope e assunzione di farmaci serotoninergici. 14 soggetti fra pazienti e controlli sono stati esclusi a causa di: emicrania (n=3), depressione (n=7), alterata risposta al BAEP (n=2) e rifiuto a portare a

termine il test (n=2). Un totale di 10 pazienti sono stati inclusi nello studio (età: 43 ± 11.04), 5 con tinnito monolaterale e 5 con tinnito bilaterale. Il gruppo di controllo era composto da 14 soggetti maschi (età: 45.1 ± 11.9) appaiati per età. Il test audiometrico e il riflesso stapediale con la misura per la diagnosi di iperacusia è stato effettuato in tutti i soggetti. Il consenso informato allo studio è stato acquisito da tutti i soggetti.

Procedura

Ogni partecipante è stato sottoposto a una valutazione elettrofisiologica che è consistita nell'acquisizione dell'IDAP e successivamente, al fine di valutare la funzionalità delle vie acustiche di trasmissione dello stimolo dalla periferia attraverso il troncoencefalo, anche gli ABR.

Prima della valutazione elettrofisiologica, sono stati utilizzati questionari validati auto-somministrati per valutare lo stato depressivo (Beck Depression Inventory, BDI) (Beck et al., 1961) e ansioso (State-Trait Anxiety Inventory 1 e 2 - STAI Y-1, STAI Y-2) (Spielberger, 1983) in tutti i partecipanti e poter escludere la presenza di alterazioni dell'attenzione determinate da sintomi ansiosi e depressivi. Il Pittsburgh Sleep Quality Index è stato adoperato per valutare la qualità del sonno. Inoltre, la gravità del tinnito è stata misurata nel gruppo dei pazienti usando il Tinnitus Handicap Inventory (THI) test, un questionario auto-somministrato comprendente 25 item che valutano la gravità del distress associato al tinnito (Passi et al., 2008).

Valutazione elettrofisiologica

IDAP: La registrazione è stata effettuata in una stanza insonorizzata e faradizzata con il soggetto seduto su una sedia confortevole. La valutazione dell'IDAP prevedeva l'elicitazione di AEP attraverso una stimolazione acustica consistente in una sequenza di 4 blocchi consecutivi di stimoli acustici ciascuno con differenti intensità (60, 70, 80, 90 dB). I blocchi, costituiti da 250

stimoli ciascuno, sono stati presentati con ordine pseudo-randomizzato mediante una stimolazione binaurale effettuata con cuffia. Ogni blocco era caratterizzato da stimoli identici fra di loro presentati con un intervallo interstimolo randomizzato compreso tra 500 e 900 ms. Gli stimoli presentavano frequenza di 1000 Hz e durata di 50 ms (tempo di salita-discesa: 10 ms). I soggetti non erano informati della sequenza dei toni e sono stati istruiti a ignorarli. Durante la stimolazione acustica i soggetti sono stati sottoposti ad una registrazione elettroencefalografica (EEG). Per la stimolazione e l'acquisizione di segnali elettrici è stato utilizzato il Neuroscan Stim Audio System p/n 1105 by Compumedics (USA). L'elettrodo attivo è stato posizionato su Cz, le due referenze sulle mastoidi e l'elettrodo di terra è stato posizionato sulla fronte. L'elettrooculogramma bipolare verticale (EOG) è stato registrato mediante due elettrodi posti sopra e sotto l'occhio di sinistra.

Per ogni blocco di intensità, almeno 150 trials sono stati acquisiti. L'epoca di analisi per ogni trial era di 600 ms con una baseline di 100 ms pre-stimolo. Tutte le registrazioni sono state mediate off-line. Gli artefatti oculari e di movimento sono stati rigettati attraverso una procedura automatica. Gli AEP sono stati filtrati attraverso una banda passante compresa tra 1-20 Hz. Le ampiezze della componente N1 (compresa tra 50 e 150 ms post-stimolo) e della componente P2 (compresa tra 90 e 230 ms post-stimolo) sono state misurate per ogni blocco di stimolo. Il valore N1/P2 ASF slope o IDAP è stato calcolato come funzione logaritmica lineare del rapporto ampiezza/stimolo per singolo blocco ($\mu\text{V}/\text{dB}$). Una procedura analoga è stata adoperata per calcolare la pendenza dei valori di ampiezza N1 per intensità di stimolazione o N1 ASF slope.

ABR: Il soggetto è stato registrato in una stanza insonorizzata seduto su una sedia confortevole. Per la stimolazione e acquisizione è stato adoperato il sistema Epic Plus apparatus by Labat (Mestre, Italy). L'elettrodo attivo è stato posto a livello di Cz. Gli elettrodi di terra e la referenza sono stati posizionati a livello delle mastoidi bilateralmente a seconda del lato stimolato. Una serie di stimoli acustici a 90 e 80 dB HL (click +/-) è stata inviata per ogni

orecchio in modo separato mediante auricolari. Almeno 1500 trial liberi da artefatto sono stati mediati per ogni stimolazione, e ogni stimolazione è stata ripetuta per almeno tre volte al fine di ottenere onde replicabili. Una banda passante compresa tra 150-1500 Hz è stata applicata durante la registrazione. La durata dello stimolo era di 100 μ s. La frequenza degli stimoli era di 11 stimoli/s. La durata dell'epoca di analisi era di 10 ms. Le variabili indagate sono state la latenza del picco I, III, V e la latenza dell'interpicco I-III, III-V and I-V.

Analisi statistica

Il Mann-Whitney U test è stato usato per il confronto tra gruppi; l'indice di correlazione di Pearson è stato usato per indagare le correlazioni tra variabili cliniche-comportamentali e i dati elettrofisiologici. In relazione all'ABR, i dati relativi all'orecchio affetto da tinnito o, in caso di tinnito bilaterale, la media delle risposte evocate da entrambi gli orecchi sono stati inclusi nell'analisi. La decisione di non effettuare una analisi tra gruppi di pazienti distinti per tinnito monolaterale o bilaterale, è legata al fatto che dal confronto dei parametri ABR non è emersa alcuna differenza tra i due gruppi. Solo l'interpicco III-V elicitato a 80 dB ha mostrato una tendenza alla significatività, in particolare il gruppo di soggetti con tinnito bilaterale ha riportato una latenza media maggiore rispetto al gruppo con tinnito monolaterale ($P = 0.054$).

RISULTATI

Nessuna differenza statisticamente significativa è emersa tra pazienti e soggetti con tinnito in relazione ai test autosomministrati (PSQI $P = 0.39$; STAI1 $P = 0.93$; STAI2 $P = 0.86$; BDI $P = 0.57$). I soggetti con tinnito, sulla base del THI sono stati classificati in: nessun soggetto con grado catastrofico, 1 soggetto con tinnito severo, 2 soggetti con tinnito moderato, 1 soggetto con tinnito lieve e 6 soggetti con tinnito leggero.

Per quanto riguarda i valori di IDAP e N1 ASF slope non sono emerse differenze significative tra i due gruppi; tuttavia un valore di pendenza maggiore era evidente per il gruppo del tinnito su entrambe le variabili (IDAP: ST 0.826 ± 1.48 ; controlli 0.037 ± 2.152 ; N1 ASF slope: ST -0.356 ± 1.115 ; controlli 0.016 ± 0.794) (Figura 1).

Per quanto riguarda le componenti ABR, una differenza statisticamente significativa è emersa tra i due gruppi sia per la latenza del picco V che per la latenza dell'interpicco III-V (Mann-Whitney U test $P = 0.035$ e $P = 0.04$ rispettivamente) evocati a 80 dB di stimolazione. I soggetti con tinnito infatti riportavano latenze maggiori in queste componenti rispetto ai soggetti di controllo (latenza picco V: ST 5.932 ± 0.191 , controlli 5.746 ± 0.213 ; latenza interpicco III-V: ST 1.979 ± 0.109 , controlli 1.837 ± 0.198).

Per quanto riguarda lo studio delle correlazioni solo il gruppo del tinnito ha mostrato una correlazione significativa tra il valore dell'N1 ASF slope e la latenza dell'interpicco III-V evocato sia a 80 che a 90 dB (Pearson's correlation: $r = -0.632$, $P = 0.05$ e $r = -0.693$ $P = 0.026$ rispettivamente); solo il gruppo di controllo ha mostrato una correlazione significativa tra il valore dell>IDAP e lo score dei questionari autosomministrati (Pearson's correlation: STAI-1 $r = -0.664$ $P = 0.01$; STAI-2 $r = -0.621$ $P = 0.018$; BDI $r = -0.63$ $P = 0.016$) e tra il valore dell'N1 ASF slope e il valore dei questionari (Pearson's correlation: BDI $r = 0.543$ $P = 0.045$). Inoltre, solo i soggetti con tinnito hanno mostrato una correlazione tra i parametri ABR e lo score dei questionari (PSQI - 90 dB I $r = -0.784$ $P = 0.007$; PSQI - 90 dB I-III $r = 0.667$ $P = 0.035$; STAI-2 - 90 dB I-III $r = 0.665$ $P = 0.036$; STAI-2 - 90 dB I-V $r = 0.693$ $P = 0.026$).

DISCUSSIONE

Lo scopo di questo studio era quello di indagare le possibili alterazioni nella trasmissione serotoninergica in corso di tinnito cronico.

Anche senza raggiungere una significatività statistica sia il valore di IDAP che l'N1 ASF slope hanno mostrato valori maggiori nei ST rispetto ai controlli sani. I nostri ST presentavano cioè risposte evocate più ampie per stimoli di intensità crescente rispetto ai controlli sani suggerendo una difficoltà nel modulare le risposte di abitudine allo stimolo acustico. E' noto, infatti, che la ripetizione di uno stimolo si accompagna ad una progressiva riduzione di ampiezza della componente N1/P2 in conseguenza di un processo di refrattarietà allo stimolo da parte dei neuroni delle corteccie uditive primarie (Näätänen et al., 2011). La presenza del sintomo fantasma ha verosimilmente segregato le risorse neurali disponibili rallentando, così, il corretto immagazzinamento dello stimolo esterno. Ciò si riflette in risposte evocate di ampiezza maggiori rispetto a condizioni di assenza di tinnito dove un numero maggiore di neuroni disponibile facilita l'immagazzinamento corretto del segnale (come dimostrato dall'ampiezza N1/P2 e il correlato valore di IDAP più basso nei controlli rispetto ai ST).

Inoltre, dal momento che il valore di IDAP presenta una correlazione inversa con i livelli centrali di 5-HT, i nostri dati suggeriscono una riduzione seppur lieve del tono serotoninergico centrale in presenza di tinnito. Noi riteniamo che la minore disponibilità di questo neurotrasmettitore, in grado di modulare i processi di memoria (Lister et al., 1996) sia a lungo termine che a breve termine, possa aver ridotto la capacità dei neuroni della corteccia uditiva primaria a sviluppare processi di abitudine efficaci. D'altra parte i recettori serotoninergici, in particolare le isoforme 5-HT₂ e 5-HT_{1A}, sono ampiamente rappresentati nell'ambito della corteccia uditiva primaria (Andorn et al., 1989) a indicare il ruolo preponderante di questo neurotrasmettitore nel promuovere le varie fasi della percezione acustica, dall'iniziale riconoscimento alla successiva memorizzazione.

La presenza di una disfunzione a carico della trasmissione serotoninergica emerge anche dai dati relativi alle latenze degli ABR. I nostri ST presentano, infatti, un allungamento significativo sia della latenza del picco V che dell'interpicco III-V e tali dati appaiono non attribuibili a danni

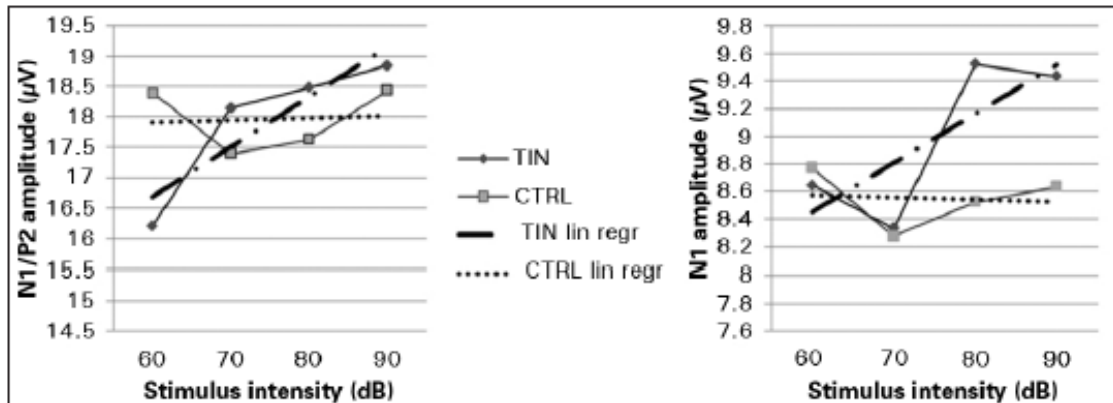
a carico di strutture periferiche dal momento che i parametri rientrano comunque in un range di normalità. Al contrario, è possibile ipotizzare la presenza di un'abnorme attività serotoninergica centrale. In effetti, precedenti lavori sperimentali hanno fornito evidenze del fatto che la deplezione della 5-HT indotta farmacologicamente mediante somministrazione di reserpina prolunga le latenze degli ABR nei soggetti emicranici (Bánk J., 1991) e che il parametro latenza di queste componenti tende a correlare negativamente con i livelli plasmatici di serotonina nei soggetti sani (Sand et al., 2008). Inoltre, il CI, vale a dire il principale generatore dell'onda V, riceve soprattutto afferenze serotoninergiche dal NDR (Hurley et al., 2002) e tale nucleo, proiettando verso i neuroni dell'oliva superiore (Woods e Azeredo, 1999) e il NC (Thompson e Thompson, 2001) (principali generatori dell'onda III e II), interviene nella genesi dell'onda III e II. E' noto che il CI presenta una notevole espressione di recettori 5-HT, in particolare i recettori 5-HT_{1A} e 5-HT_{1B}. In tale nucleo, i recettori 5-HT_{1A} sono localizzati a livello somatodendritico esercitando un effetto inibitorio, mentre i recettori 5-HT_{1B} sono stati identificati a livello presinaptico esercitando un effetto facilitatorio sulle risposte evocate dai neuroni. Ad oggi, tuttavia, il meccanismo di interazione tra i recettori 5-HT_{1A} e 5-HT_{1B} nel CI non è stato ancora ben definito. Un recente lavoro ha suggerito che una condizione di ipoacusia, quale quella che frequentemente si riscontra nella patogenesi del tinnito, si accompagna a modeste ma significative riduzioni nella densità delle fibre serotoninergiche che innervano il CI (Papesh e Hurley, 2012). D'altra parte precedenti studi sperimentali hanno rilevato una abnorme attività nel contesto del CI in presenza di tinnito (Vogler et al., 2011; Norena et al. 2013), spesso correlata ad un'alterazione funzionale del talamo nota come "disritmia talamica" (De Ridder et al., 2007) che è verosimilmente associabile ad una disfunzione della trasmissione serotoninergica (Simpson e Davies, 2000). Noi ipotizziamo che la presenza di tale anomalia funzionale del CI anche nei nostri ST possa giustificare le differenti latenze degli ABR tra pazienti e controlli.

E' interessante osservare che nel nostro campione le latenze degli ABR correlavano con il valore di N1 ASF slope. Questo dato è coerente con quanto già mostrato da precedenti lavori (Kadner et al., 2002) e suggerisce che tali parametri elettrofisiologici possono condividere substrati neuro-funzionali comuni rivelandosi entrambi strumenti utili per indagare anomalie nel pathway uditivo neurotrasmettitoriale dei soggetti con tinnito.

In sintesi, in soggetti normoacusici affetti da tinnito, l'approccio elettrofisiologico con acquisizione dell'IDAP, dell'N1 ASF slope e i parametri ABR sembra essere utile ai fini della valutazione delle alterazioni funzionali a livello mesencefalico e corticale, probabilmente correlate all'attività serotoninergica in queste stesse regioni. In particolare, noi ipotizziamo che l'alterazione nell'attività dei recettori 5-HT possa essere uno dei meccanismi responsabili sia per: 1) il prolungamento della latenza dell'onda V e dell'interpicco III-V riscontrato nei nostri ST da correlare con l'incrementata attività nel CI associata ad uno squilibrio tra l'attività dei recettori 5-HT_{1A} e 5-HT_{1B}; 2) la maggiore dipendenza dall'intensità dello stimolo dei potenziali evocati nei pazienti con tinnito e la compromissione dei processi di abituação corticale (come mostrato dai valori IDAP) da imputare alla disfunzione serotoninergica nell'ambito della corteccia uditiva primaria.

Ulteriori studi con campione più ampio sono necessari al fine di confermare questi dati e in particolare il trend in aumento del valore IDAP e dell'N1 ASF slope nei soggetti con tinnito rispetto ai controlli. Inoltre, la valutazione di questi parametri anche nelle donne è fondamentale, al fine di definire gli effetti del sesso sull'attività serotoninergica in presenza di tinnito. Tuttavia, i nostri dati elettrofisiologici forniscono evidenza di una possibile disfunzione del tono serotoninergico in corso di tinnito cronico suggerendo la validità di interventi terapeutici farmacologici mirati (uso di farmaci agonisti/antagonisti 5-HT) in questa condizione clinica.

Figura 1



A sinistra: il grafico illustra i valori N1/P2 in funzione dell'intensità di stimolo nei soggetti con tinnito e nel gruppo di controllo; La regressione lineare di questi valori identifica la funzione stimolo/ampiezza la cui pendenza è espressa dal valore dell'N1/P2 ASF slope o IDAP. A destra: il grafico illustra i valori di ampiezza N1 in funzione dell'intensità di stimolo nei soggetti con tinnito e nel gruppo di controllo; la regressione lineare di questi valori identifica la funzione ampiezza/stimolo la cui pendenza è espressa dal valore N1 ASF slope.

DINFUNZIONI CORTICALI IN CORSO DI TINNITO CRONICO

I disturbi cognitivi nel tinnito cronico

Le alterazioni strutturali maladattative associate al tinnito e coinvolgenti aree corticali multiple sono state correlate con disfunzioni del processamento cognitivo (Wilson et al., 1991; Jacobson et al., 1996; McKenna et al., 1996; Hallam et al., 2004). I soggetti con tinnito presentano difficoltà di calcolo, deficit nella fluenza verbale e nell'ambito del trail making task (McKenna et al., 1996). Inoltre, un ridotto funzionamento relativo alla working memory e alla memoria a lungo termine è stato evidenziato (Andersson et al., 2000; Andersson et al., 2002; Hallam et al., 2004; Rossiter et al., 2006). I soggetti con tinnito genericamente si dimostrano più lenti e meno accurati nei processi di rievocazione. Studi di neuroimaging, inoltre, hanno riportato la presenza di alterazioni strutturali relative ad aree corticali tipicamente correlate ai processi di memoria. Un recente lavoro ha dimostrato che la durata del tinnito correla negativamente con il livello di attività metabolica a riposo dell'ippocampo (Schecklmann et al., 2013), un'area corticale tipicamente associata ai processi di memoria e apprendimento (Verschure et al., 2014). Inoltre, in corso di tinnito cronico è stata evidenziata anche una riduzione nello spessore strutturale della sostanza grigia ippocampale (Landgrebe et al., 2009). I disturbi della sfera psichiatrica, come depressione e ansia, e i deficit di memoria evidenziati nell'ambito del tinnito cronico sembrano associarsi a significative alterazioni funzionali e di connettività tra l'ippocampo e le aree del sistema limbico (Nucleo accumbens, corteccia cingolata, amigdala) come riportato da precedenti studi di fMRI (Lockwood et al., 1998; Mirz et al., 2000; Vanneste et al., 2010). Tuttavia, mentre le aree limbiche rivelano cambiamenti nell'attività oscillatoria *alfa*, le aree ippocampali correlate ai processi mnesici presentano variazioni nell'entità dell'attività oscillatoria *beta* (De Ridder et al., 2011).

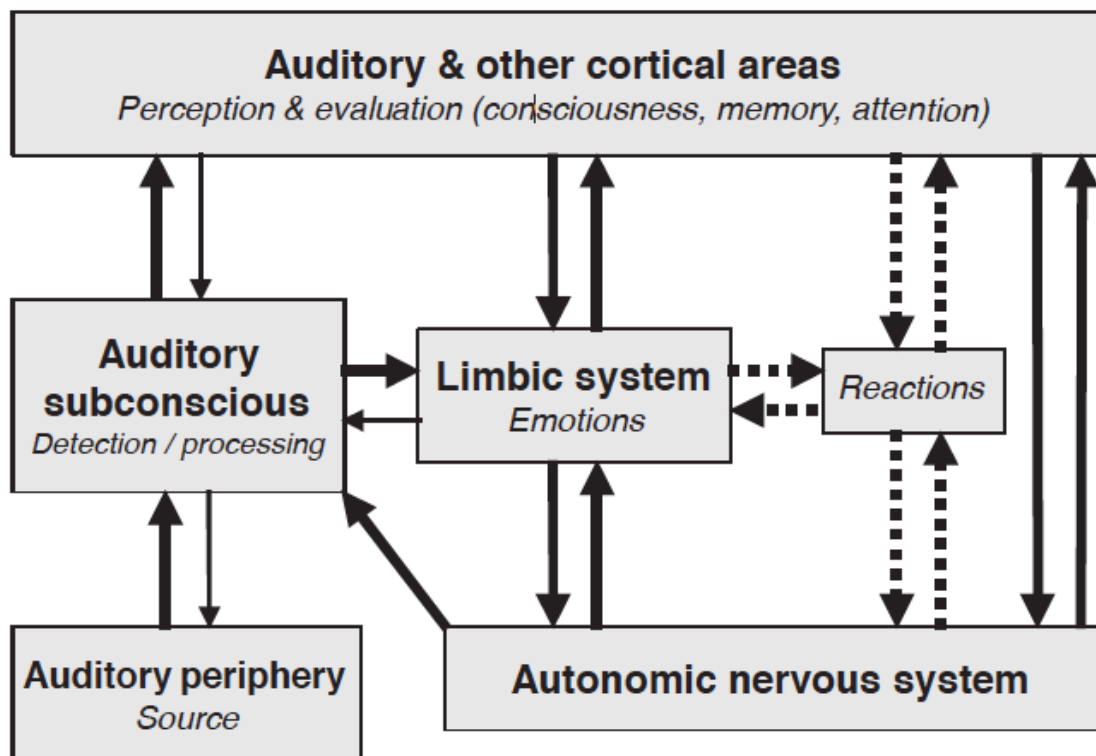
I disturbi attentivi in corso di tinnito cronico costituiscono un ulteriore campo di ricerca. Negli ultimi decenni, diversi autori hanno sostenuto che il disturbo del processamento attentivo dello stimolo potesse essere dovuto a un'alterazione del meccanismo di abituação (Andersson, 2002; Roberts et al., 2013). Questa ipotesi è supportata dall'evidenza del coinvolgimento di aree cerebrali non uditive nei soggetti con tinnito, come la corteccia prefrontale, che ha un ruolo importante nei processi attentivi e nei processi di abituação e più in generale di working memory.

Si è anche sostenuto che i deficit attentivi nei soggetti con tinnito cronico possono essere associati ad un più generale rallentamento del processamento cognitivo (Das et al., 2012).

Tuttavia lavori successivi hanno evidenziato deficit correlati a specifiche componenti dell'attenzione. Diversi studi neuropsicologici, infatti, hanno rilevato specifiche alterazioni del controllo esecutivo dell'attenzione. Dapprima, si è osservato un aumento aspecifico dei tempi di risposta in soggetti con tinnito rispetto ai controlli sani durante Stroop tasks (Andersson et al. 2000; Anderson et al., 2005). In seguito, Heeren et al. (2014) hanno poi rilevato tempi di risposta prolungati verso trials incongruenti a fronte di una risposta adeguata per trials congruenti durante un task ANT (Attention Network Task) visivo. Ciò portava gli autori a ipotizzare la presenza di un indice di controllo esecutivo alterato in presenza di sintomi uditivi fantasma e, inoltre, a osservare che la disfunzione nel controllo esecutivo correlava in modo significativo con la durata di malattia.

Altrettanto significativo è l'impatto del tinnito sull'attenzione selettiva come osservato negli studi di Stevens et al. (2007) e Rossiter et al. (2006). In tali studi i soggetti con tinnito cronico riportavano tempi di reazione più lunghi e minore accuratezza in particolare per task attentivi più complessi. Difficoltà specifiche in una condizione di task duale sono emerse anche in un precedente studio (Hallam et al., 2004). In questo caso gli autori sostenevano che la presenza di tinnito si associava a difficoltà nei processi di orientamento allo stimolo. In particolare, si

riteneva che il sintomo fantasma furtasse l'attenzione e alterasse task complessi correlati a processi di switching attentivo. Questa interpretazione era in linea con quanto stabilito da precedenti teorie come la teoria psicologica della "deplezione generale delle risorse" elaborata sul tinnito da Eccleston nel 1995. Il tinnito, come il dolore cronico, è considerato un "competing stimulus" che attrae l'attenzione. In termini cognitivi, la presenza del tinnito riduce le risorse attentive disponibili poiché in parte già dirette verso il sintomo fantasma. La presenza del tinnito rende cioè ogni task simile ad un dual task e specificamente altera performance che richiedono processi di switching attentivo o processi di attenzione selettiva o divisa. Tale teoria riceve anche un'interpretazione anatomo-funzionale con l'elaborazione del successivo modello neurofisiologico di Jastreboff del 1996 secondo il quale il tinnito e il carico emotivo ad esso correlato sono in grado di modulare funzionalmente cortecce associative multiple così da interferire con il funzionamento cognitivo e in particolare quello attentivo (Jastreboff et al., 1996).



Rappresentazione schematica del modello neurofisiologico di Jastreboff (Da Jastreboff et al., 1996)

Evidenze di alterazioni a carico delle funzioni attentive nei pazienti con tinnito emergono anche da precedenti studi psicofisiologici. Jacobson et al. nel 1996 e in un successivo lavoro del 2003 (Jacobson e McCaslin, 2003) osservavano ampiezze N1 significativamente più piccole nei pazienti con tinnito rispetto ai soggetti di controllo. Anche Attias et al. (1996) hanno rilevato differenze in latenza e ampiezza nella componente N1. Norena et al. hanno osservato una riduzione in ampiezza nelle componenti N1-P2 per stimoli di intensità elevata nei soggetti con tinnito rispetto a controlli sani (Norena et al., 1999). Si è ipotizzato che tale quadro psicofisiologico fosse legato alla modalità con cui i pazienti con tinnito orientano le loro risorse attentive. Durante l'esecuzione di tali task, verosimilmente, l'attenzione non è normalmente orientata sugli stimoli acustici inviati al soggetto. Al contrario, come sostenuto dal modello neurofisiologico del tinnito, le risorse attentive sono focalizzate sul sintomo fantasma e sul distress emotivo a esso correlato risultando focalizzate sullo stimolo con minore entità. Ciò si riflette nella ridotta ampiezza dell'N1 osservata nei soggetti con tinnito (Jacobson et al., 1996; Jacobson e McCaslin, 2003).

Ulteriore conferma di una inadeguata capacità ad orientare le risorse attentive esecutive deriva da uno studio del 2011 che rileva un aumento della latenza della componente P300 nei pazienti con tinnito cronico (Gabr et al., 2011). Inoltre, come suggerito dalla ridotta ampiezza della Mismatch Negativity (MMN), anche il processamento uditivo automatico pre-attentivo appare compromesso (Mahmoudian et al., 2013).

ESPERIMENTO II: Il processamento attentivo dello stimolo acustico nei soggetti con tinnito cronico.

Scopo del lavoro

L'obiettivo di questo studio è stato quello di valutare il processamento attentivo dello stimolo acustico in soggetti con tinnito. A tale scopo un gruppo di soggetti con tinnito cronico è stato sottoposto a una valutazione ERP con acquisizione delle componenti P300, sia P3a che P3b. Sulla base delle disfunzioni attentive già riportate in questa patologia, noi ipotizziamo di osservare ampiezze ridotte e latenze prolungate per entrambe le componenti P300 nei soggetti con tinnito.

[L'esperimento è stato oggetto della seguente pubblicazione in extenso:

Mannarelli D, Pauletti C, Mancini P, Fioretti A, Greco A, De Vincentis M, Fattapposta F. Selective attentional impairment in chronic tinnitus: evidence from an event-related potentials study. *Clin Neurophysiol* 2017;128(3):411-417. doi: 10.1016/j.clinph.2016.12.028.]

MATERIALI E METODI

Disegno dello studio

È stato condotto uno studio osservazionale trasversale che compara un gruppo di soggetti affetti da tinnito con un gruppo di controllo, appaiati per sesso ed età.

Soggetti

Venti soggetti con tinnito (ST) (8 maschi; età media: $50,1 \pm 11,1$) e 20 controlli sani appaiati per sesso ed età (8 maschi; età media: $49,4 \pm 10,9$) sono stati reclutati per lo studio da aprile

2015 a giugno 2016. Tutti i pazienti afferivano al Tinnitus Center dell'European Hospital di Roma e al Centro Acufeni del Policlinico Umberto I di Roma.

I pazienti sono stati sottoposti a una valutazione audiologica standard da un otorinolaringoiatra. Nello studio sono stati inclusi soltanto i pazienti con tinnito cronico – cioè con tinnito percepito tutti i giorni da più di sei mesi – e normoudenti (soglia uditiva al di sopra dei 20 dB) almeno fino a 2000 Hz. Sopra i 2000 Hz, l'audiogramma poteva essere normale o corrispondere a presbiacusia. In quest'ultimo caso, la perdita di udito non doveva essere maggiore di 30 dB in corrispondenza della frequenza peggiore. I pazienti sono stati selezionati in base ai seguenti criteri di inclusione: potenziali evocati acustici troncoencefalici (brainstem auditory evoked potentials - BAEP) con valori normali, risonanza magnetica (RM) encefalo negativa per lesioni focali pregresse o in atto, EEG standard di veglia nella norma. Tra i criteri di esclusione sono stati presi in considerazione: tinnito pulsante, malattia di Ménière, otosclerosi, storia di un disturbo neurologico o psichiatrico sulla base del DSM IV-R; assunzione di sostanze d'abuso e terapie in corso con farmaci attivi sul sistema nervoso centrale, in particolar modo benzodiazepine, inibitori selettivi della ricaptazione della serotonina e antiepilettici. Le principali caratteristiche cliniche dei pazienti con tinnito sono mostrate nella Tabella 1.

Tutti i soggetti del gruppo di controllo sono stati reclutati consecutivamente dai familiari non consanguinei dei pazienti con tinnito nello stesso periodo. Sono stati valutati riguardo la presenza di problemi audiologici, neurologici e psichiatrici. Nessuno dei controlli assumeva farmaci.

Tutti i soggetti arruolati nello studio sono stati sottoposti al Mini-Mental State Examination (MMSE) per escludere la presenza di demenza. È stato ottenuto un consenso informato scritto da tutti i partecipanti prima della valutazione e lo studio è stato approvato dal Comitato Etico Medico Locale.

Procedura

Ogni partecipante è stato sottoposto a una valutazione ERP che consisteva in un task Novelty P300. Prima della registrazione ERP, sono stati utilizzati questionari validati auto-somministrati per valutare lo stato depressivo (Beck Depression Inventory, BDI) (Beck et al., 1961) e ansioso (State-Trait Anxiety Inventory 1 e 2 - STAI Y-1, STAI Y-2) (Spielberger, 1983) in tutti i partecipanti, per escludere la presenza di alterazioni dell'attenzione determinate da sintomi ansiosi e depressivi. Inoltre, la gravità del tinnito è stata misurata nel gruppo dei pazienti usando il Tinnitus Handicap Inventory (THI), un questionario auto-somministrato comprendente 25 item che valutano la gravità del distress associato al tinnito (Passi et al., 2008).

Valutazione ERP

- Task Novelty P300

Il task Novelty P300 consisteva in una serie di stimoli uditivi (standard, target, novel). Lo stimolo standard aveva una frequenza di 500 Hz (durata: 200 ms; tempo di salita-discesa: 10ms; intensità: 80 dB; probabilità di ricorrenza/presentazione: 0,8) mentre lo stimolo target infrequente veniva inviato a 1000 Hz (durata: 200 ms; tempo di salita-discesa: 10 ms; intensità 80 dB; probabilità di ricorrenza: 0,1). I suoni novel (probabilità di ricorrenza: 0,1) erano unici, non ripetibili, ottenuti da un CD o generati in laboratorio usando un microfono, come la registrazione di suoni ambientali tipici (una chiave nella serratura, una tazza che viene posata su un tavolo, ect) (Kimble et al., 2000). Questi suoni novel sono stati tagliati per ottenere una durata di 200 ms ed erano ambigui e irriconoscibili; il range di frequenza variava tra 500 e 1000Hz. L'intensità di tutti gli stimoli, inclusi quelli novel, è stata valutata usando un fonometro calibrato (Radio Shack 33-2055) e regolata in modo che l'intensità percepita dai soggetti fosse di 80 dB. I soggetti non erano informati sulla presenza dei suoni novel e avevano il compito di contare

mentalmente solo i suoni target, riportando il conteggio alla fine del task. L'intervallo tra due stimoli variava casualmente tra 2 e 3 sec. Il task aveva una durata complessiva di circa 15 minuti.

- Registrazione EEG

I partecipanti erano seduti su una sedia anatomica in una stanza faradizzata e con luce spenta. I segnali elettrofisiologici sono stati registrati da elettrodi di Ag/AgCl posizionati sullo scalpo in corrispondenza di F3, Fz, F4, C3, Cz, C4, P3, Pz e P4, in accordo con il Sistema Internazionale 10-20, utilizzando una referenza bimastoidea e ponendo la terra in Fpz. Un elettrooculogramma bipolare (EOG) è stato registrato sopra e sotto l'occhio sinistro. Tutte le impedenze tra gli elettrodi sono state mantenute al di sotto di 3 KOhm. I segnali EEG ed EOG sono stati filtrati usando un intervallo 0,01-30 Hz. I dati sono stati digitalizzati con un convertitore analogico/digitale a una frequenza di campionamento di 1024 Hz e memorizzati in un hard disk. È stato utilizzato un sistema multifunzionale "MizarSirius EEG-EP".

Analisi ERP

I trial che contenevano movimenti oculari (inclusi ammiccamenti), che nei canali oculari superavano $\pm 100 \mu\text{V}$, sono stati automaticamente esclusi online, in accordo con le linee guida (Duncan et al., 2009). Sono stati esclusi online anche quelli contenenti onde con una deflessione eccedente $\pm 100 \mu\text{V}$ in qualsiasi canale. Una successiva selezione è stata fatta durante l'analisi offline per eliminare altri tipi di artefatti non rilevati dalla procedura automatica (es. movimenti generali erratici del paziente).

Per ogni soggetto, è stato calcolato il grand average dei trial liberi da artefatti ottenuti per ogni stimolo (Standard, Target, Novel) e sono stati filtrati con un filtro digitale a 20 Hz. L'attività elettrica sullo scalpo è stata misurata in tutti i siti di posizionamento degli elettrodi e successivamente si è analizzata quella in Fz, Cz e Pz dato che la risposta ERP è maggiore sulla

linea mediana. L'ampiezza di N1 è stata misurata come media del voltaggio tra 80 e 180 ms dopo ogni stimolo, mentre la latenza di N1 è stata definita e calcolata al punto medio, cioè il tempo che divide l'area sotto la curva in due metà uguali. Le ampiezze di P3b e P3a sono state misurate come media del voltaggio tra 250 ms e 500 ms, rispettivamente nella risposta allo stimolo target e al novel (Luck, 2005). Le latenze di P3b e P3a sono state calcolate per gli stessi stimoli al punto medio della stessa finestra temporale. L'accuratezza del conteggio degli stimoli target è stata calcolata come misura di performance del task.

Analisi Statistica

I dati sono espressi come media (\pm deviazione standard) per le variabili continue e come proporzione per le variabili categoriche. La distribuzione normale per i dati, che è stata testata dal test Kolmogorov-Smirnov, ha mostrato che il presupposto di normalità non è stato violato da nessun dato.

I parametri della P300 (latenza e ampiezza di N1 e P3) sono stati analizzati separatamente attraverso le medie del modello misto ANOVA per le misure ripetute, tenendo conto del fattore "elettrodo" (Fz, Cz, Pz) e del fattore "stimolo" (Standard, Target e Novel per la latenza e ampiezza di N1; Target e Novel per latenza e ampiezza di P3) come fattori dei soggetti e di confronto tra i due gruppi (ST e controllo). Se necessario, è stata applicata una correzione post hoc secondo Bonferroni. Sono stati aggiustati, quando necessario, i gradi di libertà, usando il coefficiente epsilon di Greenhouse-Geisser per possibili violazioni del presupposto di sfericità; è stato riportato un corretto valore p.

Il tasso di errore, espresso come numero di errori nel conteggio mentale degli stimoli target, e le differenze nelle caratteristiche cliniche tra i gruppi sono stati comparati usando il Mann-Whitney U Test per le variabili continue e χ^2 test per quelle categoriche.

I coefficienti di correlazione per ranghi di Spearman sono stati calcolati per valutare possibili correlazioni tra variabili cliniche ed elettrofisiologiche.

Un valore $p < 0,05$ è stato considerato statisticamente significativo. Tutte le analisi sono state fatte usando il software SPSS (Versione 20.0).

RISULTATI

Non ci sono differenze di età, sesso e livello di scolarità tra i pazienti con tinnito e i controlli. Tutti i soggetti hanno un punteggio al MMSE, aggiustato per età e livello di scolarizzazione, ≥ 23.8 , che è il cut-off per la demenza in accordo con i dati italiani (Measso et al., 1993). Nessuna differenza statistica è emersa tra i due gruppi sia nel punteggio ottenuto al BDI sia alla STAI Y-1. Una differenza minimamente significativa è stata invece trovata nei punteggi alla STAI Y-2 ($U=132$, $z = -1.08$, $p=0.07$), con un grado moderato di ansia nei pazienti rispetto ai controlli. Il punteggio medio era, comunque, molto più basso del valore di cut-off per l'ansia e la depressione moderata/severa e, nessuno dei soggetti era clinicamente depresso o ansioso.

ERP

Tutti i soggetti hanno completato la sessione ERP e le onde P3 sono state elicitate nel 100% dei soggetti.

La Fig.1 mostra la media delle componenti P300 ottenute dai pazienti e dai controlli.

- Componente P3

Per quanto riguarda la latenza di P3, l'ANOVA ha rivelato un effetto principale sia del fattore "stimolo" ($F(1,38)=52.668$, $p < 0.001$) sia del fattore "elettrodo" ($F(2,76)=19.228$, $p < 0.001$), mostrando, come atteso, una latenza maggiore per il target che per lo stimolo novel, sia per i siti parietali che frontali. Non è emerso nessun effetto di interazione significativo.

Per quanto concerne l'ampiezza di P3, una differenza significativa è stata trovata tra pazienti e controlli ($F(1,38)=3,911$, $p=0.05$) con un'ampiezza minore osservata nei soggetti con tinnito.

Inoltre, l'ANOVA ha rivelato un effetto principale del fattore "stimolo" ($F(1,38)=11.929$, $p=0.001$) e del fattore "elettrodo" ($F(2,76)=21.056$, $p<0.001$), con ampiezza maggiore per lo stimolo target e ai siti parietali.

Un effetto significativo dell'interazione "stimolo" x "gruppo" è emersa per l'ampiezza di P3 ($F(1,38)=13.528$, $p=0.001$); dopo correzione di Bonferroni, una differenza significativa è stata rilevata tra i due gruppi solo per lo stimolo novel (target: $p=0.78$; novel: $p<0.001$) con un'ampiezza della P3a più bassa nei pazienti rispetto ai controlli. Nessun altro risultato significativo è stato osservato.

- Risultati addizionali – Componente N1

La latenza di N1 era significativamente differente tra pazienti e controlli ($F(1,36)=15.9$, $p<0.001$) con latenza maggiore osservata nei soggetti con tinnito rispetto ai controlli (vedi Fig 2). Inoltre, un effetto significativo del fattore "stimolo" ($F(2,72)=6.032$, $p=0.004$) è emerso per la latenza N1, maggiore per gli stimoli novel in confronto a quelli target e standard.

Riguardo l'ampiezza di N1, l'ANOVA ha rivelato un effetto principale del fattore "stimolo" ($F(2,72)=7.728$, $p=0.001$) con una maggiore ampiezza per gli stimoli target che per quelli standard e novel. Inoltre, una differenza significativa è emersa per il fattore "elettrodo" ($F(2,72)=10.392$, $p<0.001$); come ci si attendeva, una maggiore ampiezza è emersa nei siti Fz e Cz piuttosto che in Pz.

Non è stato riscontrato nessun altro risultato significativo.

Performance

Il numero assoluto di errori non è stato diverso tra i due gruppi (ST: 0.7 ± 0.8 ; controlli: 0.2 ± 0.4 ; $U=136$, $z=-2.07$, $p=0.09$).

Correlazioni

Nessuna correlazione è stata trovata tra le caratteristiche cliniche e tutti i parametri ERP.

DISCUSSIONE

Lo scopo di questo studio era di valutare il processamento attentivo dello stimolo acustico in soggetti con tinnito cronico mediante gli ERPs, in particolare le componenti P300.

I nostri dati hanno rivelato che i ST presentano parametri P3b sovrapponibili ai soggetti sani, mentre le ampiezze della componente P3a erano significativamente ridotte nei nostri pazienti rispetto ai controlli. I risultati della P3b suggeriscono che gli stimoli significanti sono processati in modo simile tra i due gruppi in studio e che, contrariamente alle nostre ipotesi iniziali, la discriminazione attentiva selettiva associata alla funzione di context-updating (Polich, 2007) non è significativamente alterata nei soggetti affetti da tinnito cronico. Inoltre, anche le misure di performance nei ST (numero di errori al counting simile tra ST e controlli) confermano che i pazienti sono in grado di effettuare un atto cognitivo corretto durante un task goal-directed. Questi dati sono in linea con un recente studio che, impiegando un classico paradigma oddball uditivo, ha mostrato componenti P3b simili tra ST e controlli sani (Houdayer et al, 2015).

Tuttavia, i nostri dati relativi alla componente P3a indicano la presenza di una selettiva disfunzione nella fase di orientamento del processamento attentivo dello stimolo acustico, soprattutto lo shifting verso gli stimoli salienti. In particolare, mentre lo starting temporale di questa attività cognitiva sembra essere conservata (come indicato dalle latenze P3a sovrapponibili tra ST e controlli), le risorse attentive disponibili per un adeguato processo di switching sono ridotte (ampiezze P3a ridotte nei ST rispetto ai controlli).

Riteniamo che le performance legate ai task attentivi possano essere influenzate dal tinnito poiché l'attenzione è diretta verso lo stimolo "phantom" e questo riduce le risorse cognitive disponibili. Si ritiene, infatti, che il tinnito, come il dolore cronico, sia uno stimolo che entra in

competizione con gli stimoli task relevant e attrae l'attenzione (Eccleston, 1995). L'orientamento continuo al tinnito (stimolo saliente) rende cioè ogni situazione simile ad un complex-dual task e la performance cognitiva risulta alterata quando altri task che richiedono processi di switching attentivo siano richiesti. Questa è l'ipotesi della "deplezione generale delle risorse" (Eccleston, 1995; Stevens et al., 2007).

E' noto che la componente P3a è principalmente correlata al funzionamento delle aree corticali frontali e in particolare del network attentivo fronto/parietale ventrale (Kim, 2014). Il network attentivo ventrale si ritiene rintracci cambiamenti salienti nell'ambiente e agisca come un sistema di allerta o "circuit breaker" per un altro network attentivo, quello dorsale, che orienta l'attenzione verso l'ambiente esterno mandando segnali top down (Corbetta et al., 2008) ed è più correlato all'elicitazione della componente P3b (Kim, 2014). Tipicamente, il network attentivo ventrale coinvolge il funzionamento di specifiche cortecce fronto-parietali come la giunzione temporoparietale, la corteccia frontale ventrale (incluso il giro frontale inferiore e medio e l'opercolo frontale), l'IA e la CCA. (Coull et al., 1998; Corbetta e Shulman 2002; Petersen e Posner, 2012). Al contrario, il network attentivo dorsale include tipicamente i frontal eye fields, la giunzione frontale inferiore e il lobulo parietale superiore (Corbetta e Shulman 2002; Corbetta et al., 2008).

Recenti studi di fMRI nei ST hanno osservato significativi cambiamenti nell'attivazione delle aree cerebrali specificamente correlate con il network attentivo ventrale. In effetti, un'aumentata attivazione delle regioni frontali è stata rilevata nei ST, in particolare in coloro che presentavano una lunga durata di malattia (>1 anno) (Carpenter-Thompson et al., 2015). Un funzionamento abnorme dell'IA, in associazione con la CCA, è stato anche riportato (Mirz et al., 2000; Moazami-Goudarzi et al., 2010). Questi autori hanno ipotizzato che l'attivazione anomala di queste regioni nel tinnito potesse riflettere l'allocazione contemporanea delle risorse attentive sia verso il tinnito che verso gli stimoli task-relevant. Sulla base di queste evidenze sperimentali,

ipotizziamo che la presenza di tinnito, mentre attiva in modo abnorme le aree cerebrali correlate al network attentivo ventrale (come l'IA, le corteccie cingolate frontali), entra in conflitto con gli stimoli salienti, distrattori, del nostro P3 Novelty task. In queste condizioni, l'ammontare delle risorse attentive disponibili per la risposta di orientamento verso stimoli (novel) distrattori e inattesi è stato ridotto interferendo specificamente con l'elicitazione della componente P3a (bassa ampiezza della P3a). Al contrario, l'abilità di discriminare in modo selettivo, aggiornare e immagazzinare stimoli salienti e significanti sembra essere preservata (parametri P3b sovrapponibili tra ST e controlli) indicando un normale funzionamento del network attentivo dorsale.

Un'altra importante considerazione emerge dall'osservazione dei risultati relativi alla componente N1. La latenza N1 per ogni tipo di stimolo (target, standard e novel) era aumentata in ST rispetto ai controlli sani. Questi dati sembrano suggerire che la percezione precoce e la detection automatica involontaria dello stimolo, generalmente indicata dalla componente N1 (Näätänen et al., 2011), sono rallentati in presenza di un sintomo uditivo "phantom". I nostri risultati sono in linea con precedenti studi che, usando differenti task psicofisiologici, hanno confermato la presenza di questo specifico deficit attentivo nei ST (Warton e Ahmad, 1996; Mahmoudian et al., 2013; Yang et al., 2013). Jacobson et al. hanno già osservato un prolungamento della latenza N1 durante un task attentivo di ascolto dicotico (Jacobson et al., 1996). Inoltre, il fatto che la latenza della Mismatch Negativity (MMN) sia ridotta nei soggetti con tinnito indica un'alterazione nella detection automatica pre-attentiva degli stimoli devianti (Mahmoudian et al., 2013; Yang et al., 2013).

Si ritiene che le corteccie uditive primarie siano i principali generatori della componente N1, insieme con ulteriori generatori localizzati nell'ambito delle regioni posteriori dei lobi frontali (Näätänen et al., 2011). E' noto, inoltre, che il cervelletto sia una struttura sottocorticale cruciale nel processamento attentivo dello stimolo acustico, regolando anche le fasi precoci e involontarie

dello stesso (Shulman e Strashun, 1999; Mannarelli et al., 2016). Si ritiene che il cervelletto regoli direttamente il pathway uditivo discendente deputato alla percezione precoce dello stimolo (Shulman e Strashun, 1999); tuttavia si è anche ipotizzato che agisca controllando il timing e i livelli di attivazione delle aree associative cerebrali coordinando le regioni fronto-parietali che cooperano nei due network attentivi (Mannarelli et al., 2016). Precedenti studi sperimentali nel tinnito hanno dimostrato un incremento del flusso ematico regionale all'interno del cervelletto, principalmente nel verme (Lanting et al., 2014) ma anche nel lobo anteriore (Boyen et al., 2014), suggerendo così la presenza di un'anomala attività neurale all'interno di questa struttura nel tinnito. E' verosimile, quindi, che questa attività disfunzionale nel cervelletto abbia impedito una sincronizzazione neuronale appropriata, o jitter neuronale all'interno del pathway corticale correlato all'elicitazione della componente N1 durante le fasi precoci del processamento conscio dello stimolo, inducendo così un rallentamento aspecifico della latenza N1 come osservato nei nostri pazienti.

E' rilevante osservare, inoltre, che i nostri dati ERPs non sono influenzati dalle variabili psicologiche come la depressione e l'ansia, riflettendo così più specificamente una reale disfunzione cognitiva.

Una possibile limitazione di questo studio è la presenza di un gruppo di pazienti non omogeneo con soggetti normoudenti e soggetti con lieve ipoacusia, sebbene l'intensità e il range di frequenza di tutti gli stimoli (standard, target e novel) era all'interno del range di udibilità anche per i soggetti ipoacusici. Un altro aspetto riguarda la mancanza di una più ampia testatura neuropsicologica (oltre al MMSE) al fine di caratterizzare il profilo cognitivo del nostro campione. Ulteriori studi sono necessari per verificare la presenza di una correlazione tra i parametri ERPs e le performance ai test neuropsicologici. Tuttavia, crediamo che il nostro approccio psicofisiologico ci abbia consentito di rintracciare e obiettivare selettive disfunzioni attentive in corso di tinnito cronico. In primo luogo, le nostre osservazioni suggeriscono la

presenza di un generale rallentamento nella percezione precoce dello stimolo. In secondo luogo, il tinnito sembra essere associato a una specifica difficoltà nello switching attentivo verso eventi inattesi durante una risposta di orientamento probabilmente a causa di una disfunzione a carico del network attentivo ventrale.

Da un punto di vista clinico, i nostri risultati potrebbero essere utili per selezionare programmi di riabilitazione cognitiva più appropriati nel tinnito focalizzandoli sull'abilità a orientare correttamente l'attenzione verso stimoli salienti durante un task cognitivo. Inoltre, le nostre ipotesi relative alla fisiopatologia dei disturbi attentivi nel tinnito potrebbero contribuire all'identificazione di nuove aree neurali target per il trattamento delle disfunzioni cognitive attraverso tecniche di neuro modulazione (ripetitive transcranial magnetic stimulation - rTMS; transcranial direct current stimulation - tDCS) nei soggetti con tinnito cronico.

Tabella 1: Variabili demografiche e cliniche per ST e controlli

	ST (20)	Controlli (20)	P*
Età (aa)	50.1 ± 11.1 (49)	49.4 ± 10.9 (51)	0.91
Sesso (M/F)	8/12	8/12	1**
Scolarità (aa)	15.2 ± 2.2 (15.5)	15.5 ± 2.2 (16)	0.72
MMSE	29.8 ± 0.5 (30)	29.9 ± 0.2 (30)	0.58
BDI	7.1 ± 4.2 (6)	5.4 ± 2.7 (6)	0.29
STAI Y1	36.6 ± 7.9 (35)	34.0 ± 3.4 (33.5)	0.37
STAI Y2	38.3 ± 5.6 (40)	35.1 ± 4.7 (34.5)	0.07
Caratteristiche del tinnito			
<i>Durata (mm)</i>	22.3 ± 14.2 (21)	-	-
<i>Presenza durante il giorno (h/die)</i>	14.1 ± 7.3 (12)	-	-
<i>Localizzazione (monolaterale/bilaterale)</i>	11/9	-	-
<i>THI</i>	29.5 ± 14.5 (31)	-	-

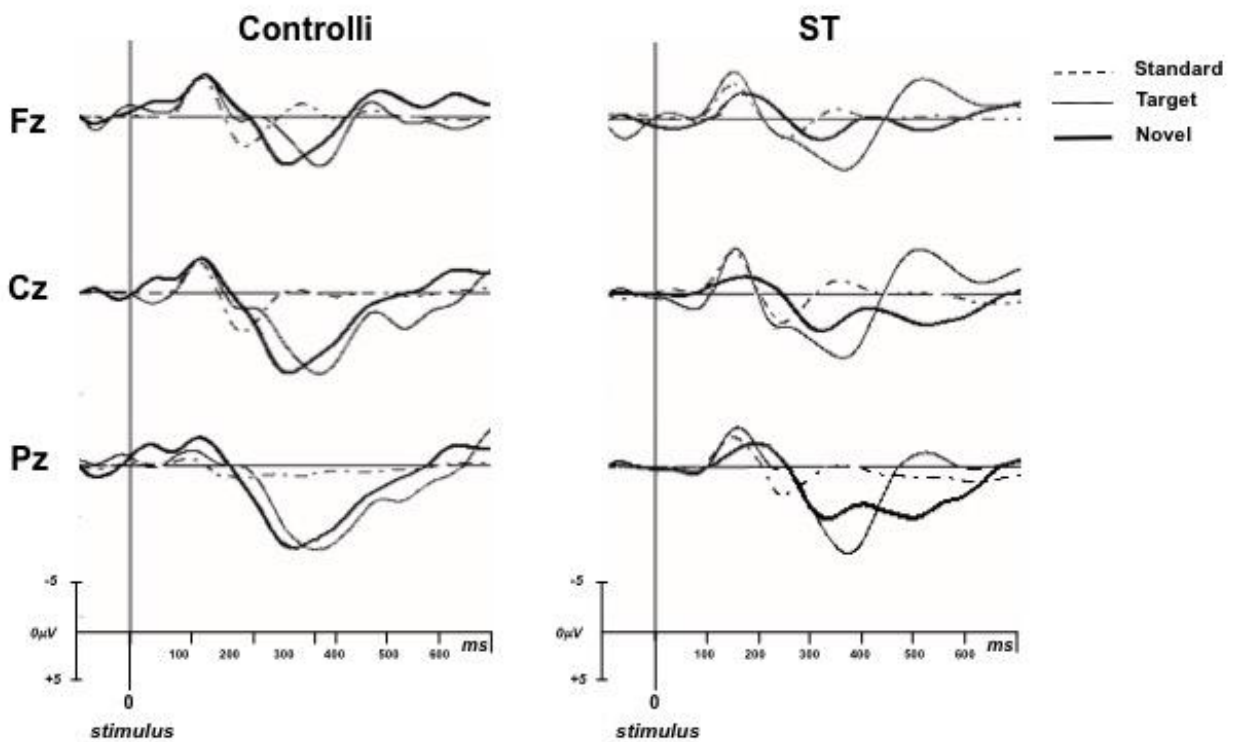
M: maschio; F: femmina; MMSE: Mini Mental State Examination; STAI Y-1: State-Trait Anxiety Inventory State score; STAI Y-2: State-Trait Anxiety Inventory Trait score; BDI: Beck Depression Inventory.

THI: Tinnitus Handicap Inventory

I dati sono espressi come medie ± deviazione standard (mediana).

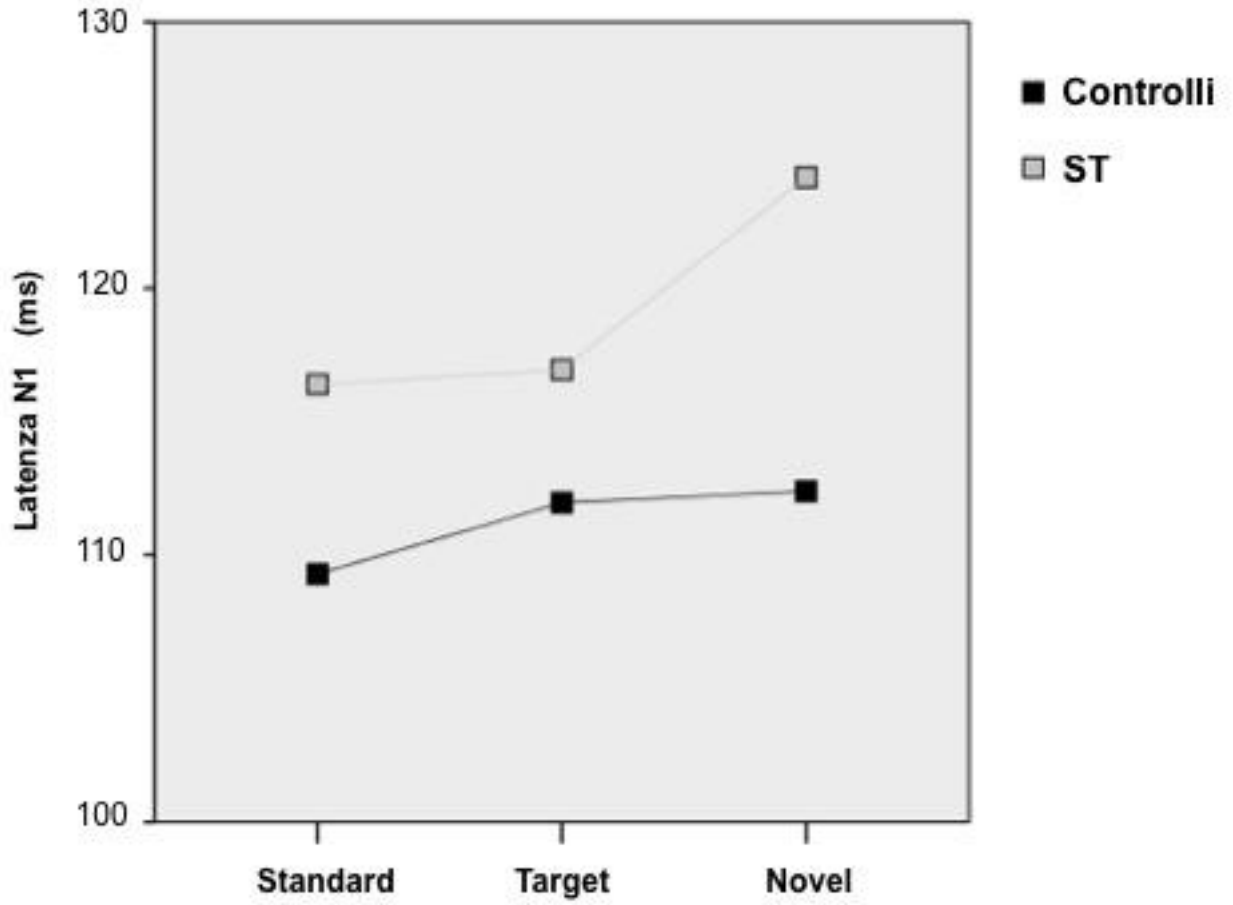
*Mann-Whitney U test; ** χ^2 per variabili categoriche. Il livello di significatività è fissato per $p \leq 0.05$.

Figura 1



Componenti ERPs visualizzate lungo la linea mediana per lo stimolo standard (linea tratteggiata), target (linea sottile) e novel (linea spessa) sia per i ST che per i controlli sani. L'epoca di analisi è di 800 ms con una baseline pre-stimolo di 100 ms.

Figura 2



Latenze della componente N1 in relazione allo stimolo standard, target e novel in ST e controlli.

CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE

Il tinnito rappresenta una delle possibili condizioni cliniche correlate a fenomeni di plasticità maladattativa che si realizzano non solo nelle aree del pathway uditivo primario, ma anche nel contesto di aree cerebrali associative. La deprivazione sensoriale è considerata alla base della patogenesi del tinnito. Si ritiene che nel tentativo di preservare l'efficienza di codifica degli stimoli acustici in presenza di uno stato anche transitorio di ipoacusia si attivino dei meccanismi di compenso (“*central gain*” compensatorio o di adattamento) (Norena e Farley, 2013) espressione di una plasticità neuronale che modifica la sensibilità dei neuroni centrali rendendoli iperattivi e quindi responsivi anche a stimoli di bassa intensità (Norena, 2011; Turrigiano, 2011). E' stato dimostrato, inoltre, che la deprivazione sensoriale può modificare il livello di espressione dei recettori serotoninergici modificando la responsività neuronale di differenti aree cerebrali.

I nostri lavori ci hanno consentito di confermare, attraverso metodiche psicofisiologiche, la presenza di alterazioni sia in pathway neurotrasmettitoriali specifici che nella funzionalità di selettive aree corticali in corso di tinnito cronico.

Nel primo lavoro la valutazione dei parametri ABR e dell'indice elettrofisiologico derivato IDAP e N1 ASF slope hanno dimostrato la presenza di una disfunzione del tono serotoninergico centrale in presenza di sintomi uditivi fantasma. In particolare, il prolungamento della latenza dell'onda V e dell'interpicco III-V riscontrato nei nostri pazienti è da correlare con l'incrementata attività nel CI associabile ad uno squilibrio tra l'attività dei recettori 5-HT_{1A} e 5-HT_{1B}. Inoltre, la maggiore dipendenza dall'intensità dello stimolo dei potenziali evocati corticali e la compromissione dei processi di abituação corticale (come mostrato dai valori IDAP) è da imputare alla disfunzione serotoninergica (in particolare ad una riduzione del tono serotoninergico) nell'ambito della corteccia uditiva primaria nei ST. Tale disfunzione serotoninergica cioè, non solo rallenta il processamento dello stimolo nelle fasi più precoci

(aumentate latenze del picco V e interpicco III-V) ma sembra rallentarne anche l'adeguato immagazzinamento corticale automatico (maggiori valori IDAP nei TS rispetto ai controlli).

D'altro canto le modificazioni plastiche maladattative che in corso di tinnito si determinano anche a carico delle aree cerebrali associative possono accompagnarsi a disfunzioni cognitive più o meno complesse. In effetti, nel secondo lavoro lo studio del processamento attentivo dello stimolo acustico attraverso gli ERPs ha permesso di rilevare delle selettive disfunzioni attentive in corso di tinnito cronico. Oltre a confermare un globale rallentamento nelle fasi precoci della percezione dello stimolo si osserva come il tinnito non comprometta la capacità di discriminazione e memorizzazione conscia. La presenza di sintomi uditivi phantom sembra essere invece selettivamente associata a una specifica difficoltà nello switching attentivo verso eventi inattesi durante una risposta di orientamento. La difficoltà a shiftare l'attenzione è verosimilmente dovuta alla minore disponibilità di risorse attentive che si determina in presenza di tinnito. Tale stimolo endogeno, infatti, compete con le risorse attentive disponibili furtandole e impedendo che vengano adeguatamente impiegate per il riconoscimento di stimoli esterni salienti e significanti. Il nostro approccio psicofisiologico ha consentito di obbiettivare e misurare la presenza di tale deficit attentivo selettivo fornendo ipotesi circa le sue basi fisiopatologiche. Tale difficoltà a shiftare l'attenzione è, infatti, probabilmente legata ad una alterazione funzionale a carico di regioni cortico-sottocorticali (corteccie prefrontali, ACC, cervelletto) che intervengono nella definizione del network attentivo ventrale tipicamente coinvolto nei processi di orientamento allo stimolo (Corbetta e Shulman, 2002; Corbetta et al., 2008)

Ulteriori studi sono necessari per confermare i dati relativi sia alla disfunzione serotoninergica centrale che per indagare gli effetti dei cambiamenti plastici maladattativi sulle funzioni cognitive in corso di tinnito cronico. Tuttavia, da un punto di vista clinico, i nostri dati forniscono delle utili prospettive terapeutiche sia farmacologiche che riabilitative. La presenza di

una disfunzione serotoninergica potrebbe verosimilmente giovare dell'uso di farmaci modulatori (agonisti/antagonisti) della 5-HT. Allo stesso modo, il riscontro di deficit attentivi selettivi consente di programmare interventi di riabilitazione cognitiva più appropriati nel tinnito focalizzandoli sull'abilità a orientare correttamente l'attenzione verso stimoli salienti durante un task cognitivo. Inoltre, le nostre ipotesi relative alla fisiopatologia dei disturbi attentivi nel tinnito potrebbero contribuire all'identificazione di nuove aree neurali target per il trattamento delle disfunzioni cognitive attraverso tecniche di neuro modulazione (ripetitive transcranial magnetic stimulation - rTMS; transcranial direct current stimulation - tDCS) nei soggetti con tinnito cronico.

APPENDICE

Meccanismi di plasticità maladattativa nel tinnito

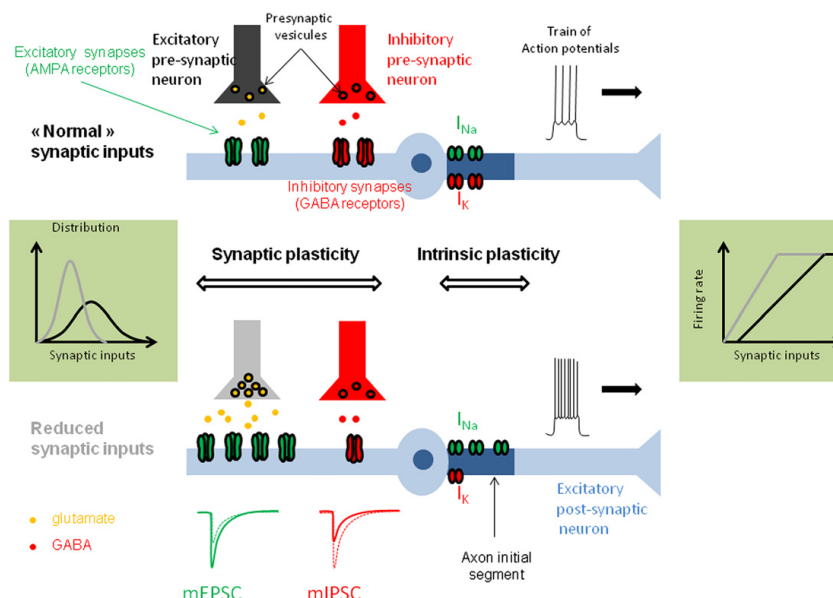
Meccanismi di plasticità intrinseca

Tra i meccanismi di plasticità intrinseca rientrano quei processi che promuovono un aumento del **firing neuronale**. L'iperattività neuronale si determina attraverso il potenziamento di fenomeni ultrastrutturali tra cui *l'efficacia sinaptica* e *l'eccitabilità neuronale intrinseca* (Noreña et al., 2013). Il potenziamento dell'efficacia sinaptica induce iperattivazione neuronale poiché riduce la soglia di attivazione del singolo neurone. Tale condizione sembra verosimilmente legata all'aumento dell'espressione dei recettori AMPA (Ammino-3-idrossi-5-Metil-4-isossazol-Propionico Acid) per il glutammato a livello post-sinaptico (Turrigiano et al., 1998) che, interagendo con il glutammato rilasciato a livello pre-sinaptico, favoriscono l'ingresso di cationi all'interno dei neuroni, determinando correnti temporanee di depolarizzazione denominate EPSPs (*Excitatory Post-Synaptic Potentials*). La sommazione temporale e spaziale degli EPSPs a livello post-sinaptico aumenta la probabilità che il neurone generi un potenziale d'azione. Inoltre, una contestuale diffusa riduzione quantitativa dei recettori per il GABA_(A) (Gamma-Amino-Butirric Acid) a livello post-sinaptico favorisce uno stato di ridotta inibizione intracorticale generalmente mediata dagli interneuroni GABAergici (Kilman et al., 2002).

Il meccanismo di eccitabilità intrinseca dei neuroni è strettamente dipendente dalla regolazione della conduttanza ionica e quindi dal livello di espressione e dalle proprietà dei canali ionici. E' stato dimostrato che la mancata attivazione dei neuroni corticali a seguito di una deprivazione sensoriale è in grado di modificare l'espressione dei canali ionici, determinando un incremento delle correnti del sodio e un decremento delle correnti del potassio favorendo così un aumento del tasso di scarica dei neuroni deafferentati (Desai et al., 1999).

Nell'ipotesi della genesi centrale del tinnito il potenziamento dell'efficacia sinaptica e dell'eccitabilità neuronale intrinseca (Noreña et al., 2013) comporterebbe quindi una riduzione

della soglia di attivazione neurale e un incremento dei potenziali d'azione spontanei in assenza di una fonte sonora afferente alle strutture uditive corticali e sottocorticali. Tale condizione di iperattività potrebbe essere anche all'origine dell'iperacusia, vale a dire una maggiore sensibilità al suono, spesso associata al tinnito (Dauman et al., 2005).



Rappresentazione schematica dei meccanismi di plasticità intrinseca – Norena et al., 2013

Un ruolo importante nella genesi del tinnito è stato attribuito anche al cambiamento e, in particolare, al potenziamento della **sincronizzazione neuronale** sia temporale che spaziale dei neuroni della corteccia uditiva primaria in corrispondenza tonotopica con quella cocleare danneggiata. Tale sincronia sembra aumentare in funzione del tempo trascorso dal danno cocleare e correla positivamente con i cambiamenti neuronali strutturali (Eggermont, 2004).

Meccanismi di plasticità strutturale

I cambiamenti strutturali che si determinano a seguito di una deprivazione sensoriale uditiva si distinguono in *precoci* e *a lungo termine*.

Le risposte *precoci* alla deprivazione sensoriale consistono principalmente nella riduzione dell'inibizione intracorticale (Irvine et al., 1997; Salvi, 2000; Eggermont et al., 2004), nello

smascheramento delle sinapsi “dormienti” (Wall, 1977; Moller, 2001) e nella creazione di nuove connessioni neuronali attraverso l’induzione dello sprouting assonale (Moller, 2001; Irvine, 2000).

La riduzione dell’inibizione intracorticale agisce smascherando le sinapsi dormienti o le connessioni intraneuronali sopresse nel contesto del SNC (Wall, 1977; Sandkuhler et al., 2000). L’inibizione intracorticale è associata a interneuroni GABAergici la cui attività, come mostrato in precedenza, risulta ridotta a seguito di deprivazione sensoriale.

Le sinapsi dormienti sono connessioni sinaptiche che, pur presenti dal punto di vista anatomico, presentano un tasso di attività basso e una soglia di attivazione molto elevata (Moller, 2001; Wall, 1977). La riduzione dell’inibizione intracorticale potrebbe smascherarle e consentirne un’attivazione funzionale (Wall, 1977; Sandkuhler et al., 2000).

Dal momento che le connessioni mascherate sono tipicamente caratterizzate da sinapsi eccitatorie, la loro attivazione comporta l’espansione dell’area corticale verso aree circostanti (Rajan, 1998; Ziemann et al, 1998). A seguito di questa diffusione laterale dell’attività neurale, una nuova stimolazione sensoriale comporterà l’attivazione di un’area cerebrale più ampia che in condizioni di base. Lo smascheramento delle sinapsi dormienti e lo sprouting assonale potrebbero determinare così una nuova diffusione dell’informazione sensoriale all’interno del SNC, consentendo in particolare anche il reindirizzamento verso aree cerebrali coinvolte nella percezione di modalità sensoriali differenti. A seguito di una stimolazione acustica unimodale si determina così una possibile interazione cross-modale tra differenti sistemi neurali come quello uditivo, acustico e somatosensoriale.

I cambiamenti *a lungo termine* si configurano essenzialmente come riorganizzazione delle mappe tonotopiche. Si è dimostrato che a seguito della riduzione delle afferenze sensoriali, i neuroni dei campi recettivi dapprima diventano silenti e meno responsivi alla stimolazione periferica (Salvi, 2000); successivamente (in un periodo variabile da qualche ora a qualche

giorno) si determinano nuove connessioni sinaptiche e si osserva una riorganizzazione delle mappe tonotopiche (Irvine e Rajan, 1997; Pantev et al., 1999; Salvi, 2000). La regione tonotopica di afferenza per le frequenze relativamente alle quali si è configurata la perdita neurosensoriale risulta allargata inglobando anche aree perilesionali (Muhlnickel et al., 1998; Pantev et al., 1998; Irvine et al., 2001). Si è determinato in particolare un eccesso di cellule omotopiche chiamate a rappresentare una funzione recettoriale periferica molto ristretta. Un gran numero di cellule neuronali si presentano così sintonizzate e sincronizzate sulla stessa frequenza acustica di rappresentazione. Questo risulterà in un tinnito con frequenza pari alla banda di frequenza per la quale si è realizzata la perdita neurosensoriale (Eggermont, 2000; Wang et al., 2002). Muhlnickel et al. (1998), inoltre, hanno rilevato una significativa associazione tra l'intensità del tinnito e l'entità della riorganizzazione tonotopica avvenuta nella corteccia uditiva.

BIBLIOGRAFIA

- Alcaini M, Giard MH, Thévenet M, Pernier J. Two separate frontal components in the N1 wave of the human auditory evoked response. *Psychophysiology*. 1994;31(6):611-5.
- Andersson G, Bakhsh R, Johansson L, Kaldo V, Carlbring P. Stroop facilitation in tinnitus patients: An experiment conducted via the world wide web. *Cyberpsychol Behav*. 2005;8:32-38.
- Andersson G, Erickson J, Lundh L, Lyttkens L. Tinnitus and cognition interference: A Stroop paradigm. *J Speech Lang Hear Res* 2000;43:1168-71.
- Andersson G, McKenna L. The role of cognition in tinnitus. *Acta Oto Laryngol* 2006;126:39-43.
- Andersson G. Psychological aspects of tinnitus and the application of cognitive-behavioral therapy. *ClinPsychol Rev* 2002;22:977-90.
- Andorn AC, Vittorio JA, Bellflower J. 3H-spiroperidol binding in human temporal cortex (Brodmann areas 41-42) occurs at multiple high affinity states with serotonergic selectivity. *Psychopharmacology* 1989;99:520-525.
- Applegate CD, Tecott LH. Global increases in seizure susceptibility in mice lacking 5-HT_{2C} receptors: a behavioural analysis. *Exp. Neurol*. 1998;154:522-530.
- Attias J, Furman V, Shemesh Z, Bresloff I. Impaired brain processing in noise-induced tinnitus patients as measured by auditory and visual event related potentials. *Ear and Hearing* 1996; 17: 327-333.
- Baguley DM. Mechanisms of tinnitus. *British Medical Bulletin* 2002;63: 195-212.
- Bánk J. Brainstem auditory evoked potentials in migraine after Rusedyl provocation. *Cephalalgia* 1991;11(6):277-9.
- Barnes NM, Sharp T. A review of central 5-HT receptors and their function. *Neuropharmacology* 1999;38:1083-1152.
- Bauer CA, Kurt W, Sybert LT, Brozoski TJ. The cerebellum as a novel tinnitus generator *Hear Res*. 2013;295:130-9.
- Beck AT, Ward CH, Mendelson M, Mock J, Erbaugh J. An inventory for measuring depression. *Arch. Gen. Psychiatry*. 1961;4:561-571.
- Bourson A, Kapps V, Zwingelstein C, Rudler A, Boess FG, Sleight AJ. Correlation between 5-HT₇ receptor affinity and protection against sound-induced seizures in DBA/2J mice. *Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmacol*. 1997;356:820-826.
- Boyen K, de Kleine E, van Dijk P, Langers DR. Tinnitus-related dissociation between cortical and subcortical neural activity in humans with mild to moderate sensorineural hearing loss. *Hear Res*. 2014;312:48-59.

- Brennan TJ, Seeley WW, Kilgard M, Schreiner CE, Tecott LH. Sound-induced seizures in serotonin 5-HT_{2c} receptor mutant mice. *Nature Genet.* 1997;16:387-390.
- Burton H, Wineland A, Bhattacharya M, Nicklaus J, Garcia KS, Piccirillo JF. Altered networks in bothersome tinnitus: a functional connectivity study. *BMC Neurosci.* 2012;4:13:3.
- Carpenter-Thompson JR, Schmidt SA, Husain FT. Neural Plasticity of Mild Tinnitus: An fMRI Investigation Comparing Those Recently Diagnosed with Tinnitus to Those That Had Tinnitus for a Long Period of Time. *Neural Plast.* 2015;2015:161478.
- Carpenter-Thompson JR, Schmidt SA, Husain FT. Neural Plasticity of Mild Tinnitus: An fMRI Investigation Comparing Those Recently Diagnosed with Tinnitus to Those That Had Tinnitus for a Long Period of Time. *Neural Plast.* 2015;2015:161478.
- Corbetta M, Patel G, Shulman GL. The reorienting system of the human brain: from environment to theory of mind. *Neuron.* 2008;58(3):306-24.
- Corbetta M, Shulman GL. Control of goal-directed and stimulus-driven attention in the brain. *Nat. Rev. Neurosci.* 2002;3:201–15.
- Coull JT, Frackowiak RSJ, Frith CD. Monitoring for target objects: activation of right frontal and parietal cortices with increasing time on task. *Neuropsychologia* 1998;36(12):1325-34.
- Coull JT, Nobre AC, Frith CD. The noradrenergic α_2 agonist clonidine modulates behavioural and neuroanatomical correlates of human attentional orienting and alerting. *Cerebral Cortex.* 2001;11(1):73–84.
- Courchesne E, Hillyard SA, Galambos R. Stimulus novelty, task relevance, and the visual evoked potential in man. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1975;39:131-43.
- Das SK, Wineland A, Kallogjeri D, Piccirillo JF. Cognitive speed as an objective measure of tinnitus. *Laryngoscope.* 2012;122(11):2533-8.
- Dauman R, Bouscau-Faure F. Assessment and amelioration of hyperacusis in tinnitus patients. *Acta Otolaryngol.* 2005;125:503-50.
- De Ridder D, De Mulder G, Verstraeten E, Seidman M, Elisevich K, Sunaert S, Kovacs S, Van der Kelen K, Van de Heyning P, Moller A. Auditory cortex stimulation for tinnitus. *Acta Neurochirur Suppl* 2007; 97: 451-62.
- De Ridder D, Elgoyhen AB, Romo R, Langguth B. Phantom percepts: Tinnitus and pain as persisting aversive memory networks. *PNAS* 2011; 108: 8075–8080.
- Desai NS, Rutherford LC, Turrigiano GG. Plasticity in the intrinsic excitability of cortical pyramidal neurons. *Nat. Neurosci.* 1999;2:515-520.
- Duncan CC, Barry RJ, Connolly JF, Fischer C, Michie PT, Näätänen R, Polich J, Reinvang I, Van Petten C. Event-related potentials in clinical research: guidelines for eliciting, recording,

and quantifying mismatch negativity, P300, and N400. *Clin. Neurophysiol.* 2009;120:1883–1908.

Duncan CC. Brain potentials in normal and disordered attention: findings in search of a theory. In: Presidential address presented at the annual meeting of the society for psychophysiological research, Chicago; 2003 59, 9–20.

Eccleston C. Chronic pain and distraction: an experimental investigation into the role of sustained and shifting attention in the processing of chronic persistent pain. *Behav Res Ther.* 1995;33(4):391-405.

Eccleston C. Chronic pain and distraction: an experimental investigation into the role of sustained and shifting attention in the processing of chronic persistent pain. *Behav Res Ther.* 1995;33(4):391-405.

Eggermont JJ, Roberts LE. The neuroscience of tinnitus. *Trends Neurosci* 2004;27:676-82.

Eggermont JJ. Physiological mechanisms and neural models. In: Tyler RS, ed. *Tinnitus Handbook*. Iowa City: Singular, Thomson Learning, 2000:85-122.

Eggermont JJ. The neuroscience of tinnitus. *Trends Neurosci* 2004;27,11.

Fabiani M, Friedman D. Changes in brain activity patterns in aging: the novelty oddball. *Psychophysiology*, 1995;32:579-594.

Friedman D, Kazmerski VA, Cycowicz YM. Effects of aging on the novelty P3 during attend and ignore oddball tasks. *Psychophysiology* 1998;35:508–520.

Gabr TA, El-Hay MA, Badawy A. Electrophysiological and psychological studies in tinnitus. *Auris Nasus Larynx* 2011; 38(6):678-83.

Geyer MA, Vollenweider FX. Serotonin research: contributions to understanding psychoses. *Trends Pharmacol Sci.* 2008;29(9):445- 53.

Halgren E, Marinkovic K, Chauvel P. Generators of the late cognitive potentials in auditory and visual oddball tasks. *Electroencephogr Clin Neurophysiol* 1998;106:156–64.

Hallam RS, McKenna L, Shurlock L. Tinnitus impairs cognitive efficiency. *Int. J. Audiol.* 2004;43:218–226.

Heeren A, Maurage P, Perrot H, De Volder A, Renier L, Araneda R, Lacroix E, Decat M, Deggouj N, Philippot P. Tinnitus specifically alters the top-down executive control sub-component of attention: evidence from the Attention Network Task. *Behav Brain Res.* 2014;269:147-54.

Hegerl U, Bottlender R, Gallinat J, Kuss HJ, Ackenheil M, Möller HJ. The serotonin syndrome scale: first results on validity, *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 1998; 248: 278-96.

- Hegerl U, Juckel G. Intensity dependence of auditory evoked potentials as an indicator of central serotonergic neurotransmission: a new hypothesis. *Biol Psychiatry*. 1993;33(3):173-87.
- Heller AJ. Classification and epidemiology of tinnitus. *Otolaryngol. Clin. North Am*. 2003;36:239–248.
- Hensch T, Wargelius HL, Herold U, Lesch KP, Oreland L, Brocke B. Further evidence for an association of 5-HTTLPR with intensity dependence of auditory-evoked potentials. *Neuropsychopharmacology*. 2006;31(9):2047-54.
- Hillyard SA, Hink RF, Schwent VL, Picton TW. Electrical signs of selective attention in the human brain. *Science* 1973;182:177–80.
- Houdayer E, Teggi R, Velikova S, Gonzalez-Rosa JJ, Bussi M, Comi G, Leocani L. Involvement of cortico-subcortical circuits in normoacoustic chronic tinnitus: A source localization EEG study. *Clinical Neurophysiology* 2015;126:2356-2365.
- Hurley LM, Thompson AM, Pollak GD. Serotonin in the inferior colliculus. *Hear Res* 2002;168(1-2):1-11.
- Irvine DR, Rajan R, Brown M. Injury- and use-related plasticity in adult auditory cortex. *Audiol Neurootol* 2001;6:192-5.
- Irvine DR, Rajan R. Injury-induced reorganization of frequency maps in adult auditory cortex: The role of unmasking of normally inhibited inputs. *Acta Otolaryngol* 1997;532:S39-45.
- Irvine DR. Injury- and use-related plasticity in the adult auditory system. *J Commun Disord* 2000;33:293-311.
- Jacobs BL, Azmitia EC. Structure and function of the brain serotonin system. *Physiol Rev*. 1992;72(1):165-229.
- Jacobson GP, Calder JA, Newman CW, Peterson EL, Wharton JA, Ahmad BK. Electrophysiological indices of selective auditory attention in subjects with and without tinnitus. *Hearing Reserch* 1996;97:66-74.
- Jacobson GP, Calder JA, Newman CW, Peterson EL, Wharton JA, Ahmad BK. Electrophysiological indices of selective auditory attention in subjects with and with out tinnitus. *HearRes*. 1996;97,66–74.
- Jacobson GP, McCaslin, DL. A re-examination of the long latency N1 response in patients with tinnitus. *Journal of the American Academy of Audiology* 2003; 14: 393–400.
- Jastreboff PJ, Gray WC, Gold SL. Neurophysiological approach to tinnitus patients. *Am J Otol* 1996;17:236–40.
- Johnson RG, Stevens KE, Rose GM. 5-HT₂ receptors modulate auditory filtering in the rat. *J. Pharmacol. Exp. Ther*. 1998;285, 643-650.

Juckel G, Gallinat J, Riedel M, Sokullu S, Schulz C, Möller HJ, Müller N, Hegerl U. Serotonergic dysfunction in schizophrenia assessed by the loudness dependence measure of primary auditory cortex evoked activity. *Schizophr Res.* 2003;64(2-3):115-24.

Juckel G, Hegerl U, Molnar M, Csépe V, Karmos G. Auditory-evoked potential reflect serotonergic neuronal activity-a study in behaving cats administrated drugs acting on 5-HT1A autoreceptors in the dorsal raphe nucleus. *Neuropsychopharmacol* 1999; 21: 710-16.

Kadner A, Viirre E, Wester DC, Walsh SF, Hestenes J, Vankov A, Pineda JA. Lateral inhibition in the auditory cortex: an EEG index of tinnitus? *Neuroreport* 2002;13(4):443-6.

Kilman V, van Rossum MCW, Turrigiano GG. Activity deprivation reduces miniature IPSC amplitude by decreasing the number of postsynaptic GABA(A) receptors clustered at neocortical synapses. *J. Neurosci.* 2002;22:1328-1337.

Kim H. Involvement of the dorsal and ventral attention networks in oddball stimulus processing: ameta-analysis *Human Brain Mapping* 2014;35:2265–2284.

Kimble M, Kaloupek D, Kaufman M, Deldin P. Stimulus novelty differentially affects attentional allocation in PTSD. *Biol Psychiatry.* 2000;47(10):880-90.

Knight RT. Contribution of human hippocampal region to novelty detection. *Nature* 1996; 383: 256–259.

Knight RT. Decreased response to novel stimuli after prefrontal lesions in man. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 1984;59:9–20.

Knight RT. Distributed cortical network for visual attention. *J Cogn Neurosci* 1997;9:75–9.

Knight RT. Evoked potential studies of attention capacity in human frontal lobe lesions. In H. S. Levin, H. M Eisenberg, & A. L. Benton (Eds.), *Frontal lobe function and dysfunction* (pp. 139–153). New York: Oxford University Press. 1991.

Kotchoubey B. Event-related potentials, cognition, and behavior: a biological approach. *Neurosci Biobehav Rev.* 2006;30(1):42-65.

Landgrebe M, Langguth B, Rosengarth K, Braun S, Koch A, Kleinjung T, May A, de Ridder D, Hajak G. Structural brain changes in tinnitus: grey matter decrease in auditory and nonauditory brain areas. *Neuroimage.* 2009;46:213–218.

Lanting CP, de Kleine E, Langers DR, van Dijk P. Unilateral tinnitus: changes in connectivity and response lateralization measured with FMRI. *PLoS One.* 2014;9(10):e110704.

Lee CY, Jaw FS, Pan SL, Lin MY, Young YH. Auditory cortical evoked potentials in tinnitus patients with normal audiological presentation. *J Formos Med Assoc* 2007;106(12):979-85.

Li YW, Bayliss DA. Presynaptic inhibition by 5-HT1B receptors of glutamatergic synaptic inputs onto serotonergic caudal raphe neurones in rat. *J. Physiol.* 1998;510:121-134.

Linka T, Sartory G, Wiltfang J, Muller BW. Treatment effects of serotonergic and noradrenergic antidepressant on the intensity dependence of auditory ERP components in major depression. *Neurosci Lett*. 2009; 463(1): 26-30.

Lister S, Pearce JM, Butcher SP, Collard KJ, Foster GA. Acquisition of conditioned inhibition in rats is impaired by ablation of serotonergic pathways. *Eur. J. Neurosci*. 1996;8:415-423.

Lockwood AH, Salvi RJ, Coad ML, Towsley ML, Wack DS, Murphy BW. The functional neuroanatomy of tinnitus: evidence for limbic system links and neural plasticity. *Neurology* 1998;50:114–120.

Luck SJ, Kappenman ES. *The Oxford Handbook of Event-Related Potential Components*. Oxford Library of Psychology. 2012.

Luck SJ. *An Introduction to the Event-Related Potential Technique*. Cambridge, MA: MIT Press. 2005.

Luck SJ. *An Introduction to the Event-Related Potential Technique*. MIT Press, Cambridge, MA. 2005.

Mahmoudian S, Farhadi M, Najafi-Koopaie M, Darestani-Farahani E, Mohebbi M, Dengler R, Esser KH, Sadjedi H, Salamat B, Danesh AA, Lenarz T. Central auditory processing during chronic tinnitus as indexed by topographical maps of the mismatch negativity obtained with the multi-feature paradigm. *Brain Res* 2013; 1527: 161-73.

Mahmoudian S, Lenarz M, Esser KH, Salamat B, Alaeddini F, Dengler R, Farhadi M, Lenarz T. Alterations in early auditory evoked potentials and brainstem transmission time associated with tinnitus residual inhibition induced by auditory electrical stimulation. *Int Tinnitus J*. 2013;18(1):63-74.

Mannarelli D, Pauletti C, De Lucia MC, Delle Chiaie R, Bersani FS, Spagnoli F, Minichino A, Currà A, Trompetto C, Fattapposta F. Effects of cerebellar transcranial direct current stimulation on attentional processing of the stimulus: Evidence from an event-related potentials study. *Neuropsychologia*. 2016;84:127-35.

Marriage J, Barnes NM. Is central hyperacusis a symptom of 5-hydroxytryptamine (5-HT) dysfunction? *J Laryngol Otol* 1995;109,915–921.

Maudoux A, Lefebvre P, Cabay JE, Demertzi A, Vanhauzenhuyse A, Laureys S, Soddu A. Auditory resting-state network connectivity in tinnitus: a functional MRI study. *PLoS One* 2012;7(5):e36222.

McKenna LM, Hallam RS, Shurlock I. Cognitive functions in tinnitus patients. In: *Proceedings of the 5th International Tinnitus Seminar*. G. Reich, J. Vernon, Eds. OR: American Tinnitus Association, Portland, 1996; pp.589-595.

Measso G, Cavarzeran F, Zappala G, Lebowitz BD, Crooke TH, Pirozzolo FJ, Amaducci LA, Massari D, Grigoletto F. The Mini-Mental State Examination: normative study of an Italian random sample. *Dev. Neuropsychol*. 1993;9:77-85.

- Melo LL, Brandao ML. Role of 5-HT1A and 5-HT2 receptors in the aversion induced by electrical stimulation of inferior colliculus. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 1995;51:317-321.
- Mirz F, Gjedde A, Ishizu K, Pedersen CB. Cortical networks subserving the perception of tinnitus--a PET study. *Acta Otolaryngol Suppl.* 2000;543:241-3.
- Mirz F, Gjedde A, Ishizu K, Pedersen CB. Cortical networks subserving the perception of tinnitus--a PET study. *Acta Otolaryngol Suppl.* 2000;543:241-3.
- Mirz F, Pedersen B, Ishizu K, Johannsen P, Ovesen T, Stodkilde-Jorgensen H, Gjedde A. Positron emission tomography of cortical centers of tinnitus. *Hear Res.* 1999;134:133-144.
- Moazami-Goudarzi M, Michels L, Weisz N, Jeanmonod D. Temporo-insular enhancement of EEG low and high frequencies in patients with chronic tinnitus. QEEG study of chronic tinnitus patients. *BMC Neurosci.* 2010;11:40.
- Moller AR. Symptoms and signs caused by neural plasticity. *Neurol Res* 2001;23:565-72.
- Morgane PJ. Monoamine theories of sleep: the role of serotonin - a review (proceedings). *Psychopharmacol. Bull.* 1981;17:13-17.
- Muhlnickel W, Elbert T, Taub E, et al. Reorganization of auditory cortex in tinnitus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998;95:10340-3.
- Muhlnickel W, Elbert T, Taub E, et al. Reorganization of auditory cortex in tinnitus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998;95:10340-3.
- Mulert C, Jäger L, Propp S, Karch S, Störmann S, Pogarell O, Möller HJ, Juckel G, Hegerl U. Sound level dependence of the primary auditory cortex: Simultaneous measurement with 61-channel EEG and fMRI. *Neuroimage.* 2005;28(1):49-58.
- Näätänen R, Kujala T, Winkler I. Auditory processing that leads to conscious perception: a unique window to central auditory processing opened by the mismatch negativity and related responses. *Psychophysiology.* 2011;48(1):4-22.
- Näätänen R, Picton T. The N1 wave of the human electric and magnetic response to sound: a review and an analysis of the component structure. *Psychophysiology.* 1987;24(4):375-425.
- Nathan PJ, Segrave R, Phan KL, O'Neill B, Croft RJ. Direct evidence that acutely enhancing serotonin with the selective serotonin reuptake inhibitor citalopram modulates the loudness dependence of the auditory evoked potential (LDAEP) marker of central serotonin function. *Hum Psychopharmacol.* 2006;21(1):47-52.
- Nieuwenhuis S, Aston-Jones G, Cohen JD. Decision making, the P3, and the locus coeruleus-norepinephrine system. *Psychol Bull* 2005;131:510-32.
- Norena A, Cransac H, Chéry-Croze S. Towards an objectification by classification of tinnitus. *Clinical Neurophysiology* 1999; 110: 666-675.

- Noreña AJ, Farley BJ. Tinnitus-related neural activity: theories of generation, propagation, and centralization. *Hear Res.* 2013;295:161-71.
- Noreña AJ. An integrative model of tinnitus based on a central gain controlling neural sensitivity. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2011;35:1089-1109.
- O'Neill BV, Croft RJ, Leung S, Guille V, Galloway M, Phan KL, Nathan PJ. Dopamine receptor stimulation does not modulate the loudness dependence of the auditory evoked potential in humans. *Psychopharmacology (Berl)*. 2006;188(1):92-9.
- Ozkul Y, Bozlar S. Effects of fluoxetine on habituation of pattern reversal visually evoked potentials in migraine prophylaxis. *Headache*. 2002;42(7):582-7.
- Ozkul Y, Uckardes A. Median nerve somatosensory evoked potentials in migraine. *Eur J Neurol*. 2002;9(3):227-32.
- Pantev C, Oostenveld R, Engelien A, et al. Increased auditory cortical representation in musicians. *Nature* 1998;392:811-4.
- Pantev C, Wollbrink A, Roberts LE, et al. Short-term plasticity of the human auditory cortex. *Brain Res* 1999;842:192-9.
- Papesh MA, Hurley LM. Plasticity of serotonergic innervation of the inferior colliculus in mice following acoustic trauma. *Hear Res* 2012;283(1-2):89-97.
- Passi S, Ralli G, Capparelli E, Mammone A, Scacciatelli D, Cianfrone G. The THI questionnaire: psychometric data for reliability and validity of the Italian version. *Int Tinnitus J*. 2008;14(1):26-33.
- Petersen SE, Posner MI. The attention system of the human brain: 20 years after. *Annu Rev Neurosci*. 2012;35:73-89.
- Picton TW, Bentin S, Berg P, Donchin E, Hillyard SA, Johnson R Jr, Miller GA, Ritter W, Ruchkin DS, Rugg MD, Taylor MJ. Guidelines for using human event-related potentials to study cognition: recording standards and publication criteria. *Psychophysiology*. 2000;37(2):127-52.
- Pike VW, McCarron JA, Lammerstma AA, Hume SP, Poole K, Grasby PM, Malizia A, Cliffe IA, Fletcher A, Bench CJ. First delineation of 5-HT_{1A} receptors in human brain with PET and (11C)WAY-100635. *Eur. J. Pharmacol.* 1995;283:1-3.
- Polich J, Comerchero MD. P3a from visual stimuli: typicality, task, and topography.
- Polich J. Updating P300: an integrative theory of P3a and P3b. *Clin Neurophysiol*. 2007;118(10):2128-48.
- poststimulus undershoot independent of the positive signal. *Magn. Reson. Imaging* 2009;27:1030-1038.

- Rajan R. Receptor organ damage causes loss of cortical surround inhibition without topographic map plasticity. *Nat Neurosci* 1998;1:138–43.
- Ranganath C, Paller K A. Frontal brain activity during episodic and semantic retrieval: insights from event-related potentials. *J Cogn Neurosci* 1999;11: 598–609.
- Ranganath C, Rainer G. Neural mechanisms for detecting and remembering novel events. *Nat Rev Neurosci* 2003;4(3):193-202.
- Roberts LE, Hussain FT, Eggermont JJ. Role of attention in the generation and modulation of tinnitus. *Neurosci Biobehav Rev* 2013;37:1754–73
- Rossiter S, Stevens C, Walker G. Tinnitus and its effect on working memory and attention. *J Speech Lang Hear Res.* 2006;49(1):150-60.
- Sadaghiani S, Ugurbil K, Uludag K. Neural activity-induced modulation of BOLD
- Salvi RJ. Neural plasticity and tinnitus. In: Tyler RS, ed. *Tinnitus Handbook*. Iowa City, IA: Singular Thomson Learning, 2000:123-48.
- Sand T, Zhitniy N, White LR, Stovner LJ. Brainstem auditory-evoked potential habituation and intensity-dependence related to serotonin metabolism in migraine: a longitudinal study. *Clin Neurophysiol* 2008;119(5):1190-200.
- Sandkuhler J, Benrath J, Brechtel C, et al. Synaptic mechanisms of hyperalgesia. *Prog Brain Res* 2000;129:81-100.
- Schecklmann M, Landgrebe M, Poepl TB, Kreuzer P, Manner P, Marienhagen J, Wack DS, Kleinjung T, Hajak G, Langguth B. Neural correlates of tinnitus duration and distress: a positron emission tomography study. *Hum.Brain Mapp.* 2013;34,233–240.
- SchroËger E, Giard M-H, Wolff C. Auditory distraction: event-related potential and behavioral indices. *Clin Neurophysiol* 2000;111:1450-60.
- Shulman A, Strashun AM. The descending auditory system/ cerebellum! and tinnitus. *Int Tinnitus J* 1999;5(2):92-106.
- Simons RF, Graham FK, Miles MA, Chen X. On the relationship of P3a and the Novelty-P3. *Biol Psychol.* 2001;56(3):207-18.
- Courchesne E, Hillyard SA, Galambos R. Stimulus novelty, task relevance and the visual evoked potential in man. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1975;39:131-43.
- Simpson JJ, Davies WE. A review of evidence in support of a role for 5-HT in the perception of tinnitus. *Hear Res.* 2000;145(1-2):1-7.
- Smith ME, Halgren E, Sokolik M, Baudena P, Musolino A, Liegeois-Chauvel C, et al. The intracranial topography of the P3 event-related potential elicited during auditory oddball. *Electroencephogr Clin Neurophysiol* 1990;76:235–48.

Snyder E, Hillyard SA. Long-latency evoked potentials to irrelevant, deviant stimuli. *Biol. Psychol.* 1976;16:319–331.

Soltani M, Knight RT. Neural origins of the P300. *Crit Rev Neurobiol* 2000;14:199–224.

Spielberger CD. *Manual for the State-Trait Anxiety Inventory (Self-evaluation Questionnaire)*. Consulting Psychologists Press, Palo Alto. 1983.

Squires NK, Squires KC, Hillyard SA. Two varieties of long-latency positive waves evoked by unpredictable auditory stimuli in man. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol* 1975; 38: 387–401.

Squires NK, Squires KC, Hillyard SA. Two varieties of long-latency positive waves evoked by unpredictable auditory stimuli in man. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1975;38:387–401.

Stanzione P, Fattapposta F, Guiunti P. P300 variations in Parkinsonian patients before and during dopaminergic monotherapy: a suggested dopamine component in P300. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 1991; 80: 446–453.

Stevens C, Walker G, Boyer M, Gallagher M. Severe tinnitus and its effect on selective and divided attention. *International Journal of Audiology* 2007;46:208-216.

Stevens C, Walker G, Boyer M, Gallagher M. Severe tinnitus and its effect on selective and divided attention. *International Journal of Audiology* 2007;46:208-216.

Strobel A, Debener S, Schmidt D, Hünnerkopf R, Lesch KP, Brocke B. Allelic variation in serotonin transporter function associated with the intensity dependence of the auditory evoked potentials. *Am J Med Genet* 2003;118B:41-47.

Sutton S, Braren M, Zubin J, John ER. Evoked-potential correlates of stimulus uncertainty. *Science.* 1965;150(3700):1187-8.

Thompson AM, Thompson GC. Serotonin projection patterns to the cochlear nucleus. *Brain Res* 2001;907(1-2):195-207.

Thompson GC, Thompson AM, Garrett KM, Britton BH. Serotonin and serotonin receptors in the central auditory system. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 1994;110:93-102.

Tuchtenagen F, Daumann J, Norra C, Gobelé R, Becker S, Pelz S, Sass H, Buchner H, Gouzoulis-Mayfrank E. High Intensity Dependence of Auditory Evoked dipole source activity indicates decreased serotonergic activity in abstinent ecstasy (MDMA) users. *Neuropsychopharmacology* 2000; 22: 608-617.

Turrigiano G. Too many cooks? Intrinsic and synaptic homeostatic mechanisms in cortical circuit refinement. *Annu. Rev. Neurosci.* 2011;34:89-103.

Turrigiano GG, Leslie KR, Desai NS, Rutherford LC, Nelson SB. Activity dependent scaling of quantal amplitude in neocortical neurons. *Nature* 1998;391:892-896.

- Vanneste S, Plazier M, der Loo E, de Heyning PV, Congedo M, DeRidder D. The neural correlates of tinnitus-related distress. *NeuroImage* 2010;52:470–480.
- Verschure PFMJ, Pennartz CMA, Pezzulo G. The why, what, where, when and how of goal-directed choice: neuronal and computational principles, *Phil. Trans. R. Soc. B.* 2014;369, 20130483.
- Vogler DP, Robertson D, Mulders WHAM. Hyperactivity in the ventral cochlear nucleus after cochlear trauma. *J. Neurosci.* 2011;31:6639-6645.
- Wall PD. The presence of ineffective synapses and the circumstances which unmask them. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 1977;278:361-72.
- Wang J, Ding D, Salvi RJ. Functional reorganization in chinchilla inferior colliculus associated with chronic and acute cochlear damage. *Hear Res* 2002;168:238-49.
- Weisz N, Moratti S, Meinzer M, Dohrmann K, Elbert T. Tinnitus perception and distress is related to abnormal spontaneous brain activity as measured by magnetoencephalography. *PLoS Med.* 2005;2(6): e153.
- Weisz N, Moratti S, Meinzer M, Dohrmann K, Elbert T. Tinnitus perception and distress is related to abnormal spontaneous brain activity as measured by magnetoencephalography. *PLoS Med.* 2005;2(6):e153.
- Wilson PH, Henry J, Bowen M, Haralambous G. Tinnitus reaction questionnaire: psychometric properties of a measure of distress associated with tinnitus. *J. Speech Hear Res.* 1991;34:197–201.
- Woods CI, Azeredo WJ. Noradrenergic and serotonergic projections to the superior olive: potential for modulation of olivocochlear neurons. *Brain Res.* 1999;836:9-18.
- Yamaguchi S, Knight RT. Effects of temporal-parietal lesions on the somatosensory P3 to lower limb stimulation. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 1992;84(2):139-48.
- Yang H, Xiong H, Yu R, Wang C, Zheng Y, Zhang X. The characteristic and changes of the event-related potentials (ERP) and brain topographic maps before and after treatment with rTMS in subjective tinnitus patients. *PLoS One.* 2013;8(8):e70831.
- Ziemann U, Hallett M, Cohen LG. Mechanisms of deafferentation induced plasticity in human motor cortex. *J Neurosci* 1998;18:7000-7.