



UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI ROMA  
"LA SAPIENZA"  
FACOLTA' DI PSICOLOGIA  
Indirizzo di Psicologia Clinica e di Comunità

TESI DI LAUREA IN:

PSICOLOGIA FISIOLÓGICA

# **INIBIZIONE E FACILITAZIONE INTRACORTICALE DURANTE IL SONNO**

CANDIDATA

Silvia Tarsi  
matr. 15182088

RELATORE

Prof. Luigi De Gennaro

CORRELATORE

Prof. Vilfredo De Pascalis

ANNO ACCADEMICO 2002-2003

# INDICE

<b>Introduzione generale</b>	<b>3</b>
 <b>Capitolo 1. La stimolazione magnetica transcranica</b>	 <b>6</b>
 1.1 Cenni storici	 6
1.2 Descrizione generale della tecnica	10
1.3 La stimolazione magnetica corticale	16
1.3.1 I diversi paradigmi	16
1.3.2 Applicazioni neurofisiologiche	22
1.3.3 Applicazioni cliniche	36
1.4 La stimolazione magnetica transcranica ripetitiva	49
1.4.1 Applicazioni neurofisiologiche	51
1.4.2 Applicazioni terapeutiche	64
1.5 Stimolazione magnetica e sonno	72
1.5.1 L'utilizzo della stimolazione magnetica corticale durante il sonno	72
1.5.2 L'influenza della stimolazione ripetitiva sulla struttura del sonno successivo	 80

<b>Capitolo 2. Differenze regionali nel sonno</b>	83
2.1 Differenze di topografia corticale EEG	83
2.2 Differenze nel metabolismo cerebrale	94
<b>Capitolo 3. La ricerca</b>	104
3.1 Introduzione	104
3.2 Metodo	108
3.2.1 Soggetti	108
3.2.2 Materiali	109
3.2.3 Disegno e procedura	110
3.2.4 Analisi dei dati	114
3.3 Risultati	115
3.4 Discussione	121
<b>Conclusioni</b>	126
<b>Bibliografia</b>	128

# INTRODUZIONE GENERALE

Negli ultimi anni, gli sviluppi delle conoscenze nell'ambito delle biotecnologie, hanno reso possibile, anche per la psicofisiologia del sonno, l'utilizzo di metodiche di indagine del funzionamento cerebrale *in vivo*, diverse dall'EEG. Tra le più importanti di queste moderne tecniche di esplorazione funzionale del cervello, cosiddette di *neuroimaging*, vi sono la Tomografia ad Emissione di Positroni (o *Positron Emission Tomography*, PET), la Tomografia ad Emissione di Fotone Singolo (o *Single Photon Emission Tomography*, SPECT), la Spettroscopia Prossima all'Infrarosso (o *Near Infrared Spectroscopy*, NIRS), la Magnetoencefalografia (o *Magnetoencephalography*, MEG), la Risonanza Magnetica Funzionale (o *functional Magnetic Resonance Imaging*, fMRI).

E' stato anche grazie all'utilizzo delle tecniche di *neuroimaging* che, negli ultimi anni, si è evidenziato come il sonno, più che un processo globale che coinvolge contemporaneamente ed in maniera omogenea l'intero cervello, debba essere considerato come un processo locale con caratteristiche uso-dipendenti (Krueger e Obal, 1993). Analisi quantitative dell'EEG durante la transizione veglia-sonno hanno mostrato che le aree corticali anteriori sincronizzano per prime la loro attività (De Gennaro e coll., 2001) e che durante il sonno non-REM le frequenze lente dell'EEG (o *slow-wave activity*, SWA) mostrano un chiaro gradiente antero-posteriore (Werth e

coll., 1997). Le aree anteriori risultano anche particolarmente coinvolte nei processi omeostatici del sonno, poiché la predominanza frontale della SWA aumenta dopo deprivazione di sonno totale (Finelli e coll., 2001), parziale o selettiva (Ferrara e coll., 2002). Differenze regionali sono state osservate anche durante il sonno REM sia con indici metabolici (Schwartz e Maquet, 2002) che elettrofisiologici (De Gennaro e coll., 2002). Inoltre, in base al fatto che il flusso ematico cerebrale regionale (o *regional Cerebral Blood Flow*, rCBF) riflette l'attività sinaptica locale (Jueptner e Weiller, 1995), è stato osservato come i meccanismi di base della regolazione del CBF persistono anche durante il sonno, mostrando aree cerebrali di attivazione diverse a seconda dello stadio del sonno (Maquet, 2000).

In questo scenario, la Stimolazione Magnetica Transcranica (TMS), una metodica non invasiva che permette di indagare, tra le altre cose, l'attività del sistema corticospinale e l'eccitabilità corticale, potrebbe essere utilizzata per lo studio della neurofisiologia del sonno normale e patologico.

Tuttavia, i primi tentativi di utilizzo di questa tecnica durante il sonno hanno alterato il *pattern* caratteristico dello stadio del sonno, dal momento che la somministrazione di un singolo stimolo magnetico soprasoglia è suscettibile di svegliare il soggetto, o alleggerire il suo sonno portando a risultati che erano incompatibili con le peculiarità intrinseche del sonno stesso.

La parte empirica della presente tesi ha proprio l'obiettivo di impiegare tale tecnica durante vari stadi del sonno, osservandone, così, la fisiologia corticale e corticospinale, senza alterare il *pattern* caratteristico di ognuno di essi.

Nel primo capitolo si discuterà della Stimolazione Magnetica Transcranica, descrivendone le caratteristiche intrinseche come tecnica di stimolazione cerebrale; nello stesso saranno delineati i diversi paradigmi TMS, tra cui la tecnica del “doppio stimolo” e, successivamente, si passerà ad illustrare le applicazioni neurofisiologiche e cliniche della TMS. In questo capitolo sarà trattata anche la Stimolazione Magnetica Transcranica ripetitiva (rTMS) e le sue applicazioni neurofisiologiche e terapeutiche; si tratta di una tecnica di stimolazione ripetuta su un singolo punto dello scalpo che da vari autori è considerata come tecnica invasiva e potenzialmente pericolosa in quanto interferisce con l’attività elettrica cerebrale e con i potenziali sinaptici. Il primo capitolo, infine, si chiuderà con il paragrafo dedicato all’influenza della TMS e della rTMS sul sonno.

Il secondo capitolo riguarderà le differenze regionali cerebrali nel sonno, precisamente le differenze di topografia corticale EEG e le relative differenze nel metabolismo cerebrale.

Infine, nel terzo capitolo, sarà esposta la ricerca sull’inibizione e la facilitazione intracorticale durante il sonno ad onde lente (SWS) e sonno REM, mediante la tecnica di stimolazione TMS a “doppio stimolo”.

# **- CAPITOLO 1 -**

## **LA STIMOLAZIONE MAGNETICA TRANSCRANICA**

### **1.1 Cenni storici**

L'eccitabilità elettrica della corteccia cerebrale è stata scoperta più di cento anni fa da Fritsch e Hitzig.

Ferrier, stimolando direttamente la superficie della corteccia di cani e scimmie mediante corrente elettrica, causava la contrazione dei muscoli vicini allo scalpo e dolore cutaneo (Ferrier, 1975). L'alta resistenza dello scalpo e del cranio al passaggio della corrente elettrica, faceva sì che la maggior parte della corrente applicata percorreva la pelle e i tessuti sottocutanei piuttosto che penetrare nel cervello.

I primi esempi di evocazione di un potenziale motorio nell'uomo risalgono alla fine del 1800 quando Bartholow, in corso di interventi neurochirurgici, eccitò la corteccia cerebrale umana esposta registrandone gli effetti motori in periferia. Prima di vedere applicata questa tecnica con modalità non invasiva occorre attendere sino alla metà del 1900, quando, a Londra, Gualtierotti e Paterson, stimolando con

scariche elettriche ripetitive l'emiscalpo di soggetti volontari, riuscirono a provocare grossolani movimenti involontari nell'emisoma opposto. Il dolore, la costante induzione di crisi epilettiche e lo scarso valore diagnostico della metodica ne arrestarono transitoriamente il diffondersi.

Agli inizi degli anni '80 a Cambridge, il neurofisiologo Merton, con la collaborazione di Morton, ridusse la componente algica e il rischio di crisi abbassando le resistenze fra elettrodo e scalpo. Ogni risposta periferica (*motor evoked potentials*, MEP) veniva elicitata dopo una breve latenza (circa 20 ms ai muscoli della mano e circa 30-40 ms ai muscoli del piede).

Da quel momento la metodica prese piede e fu introdotta pochi anni dopo anche in Italia (Rossini, 1984). L'ostacolo principale all'utilizzo nella pratica clinica, sebbene ridotto, permaneva: la differenza di potenziale fra due elettrodi di superficie applicati sullo scalpo comporta un passaggio di cariche che coinvolge prevalentemente gli strati superficiali cutanei stimolando innanzitutto le fibre di piccolo calibro a funzione algica. Per eccitare gli strati più profondi occorreva aumentare l'intensità di corrente, ma ciò comportava aumento del dolore e, in presenza di elevate resistenze, la possibilità di arrecare lesioni cutanee.

Le difficoltà etiche relative alla stimolazione elettrica transcranica furono superate solo nel 1985 quando a Londra Barker presentò il prototipo di un nuovo stimolatore che prevedeva la sostituzione della fonte stimolante elettrica con un campo magnetico variabile, capace di eccitare per via transcranica, con una corrente indotta, la via corticospinale motoria senza effetti dolorosi.



Questa metodica non invasiva, denominata Stimolazione Magnetica Transcranica (*transcranial magnetic stimulation*, TMS), opera sulla base di un principio dell'induzione elettromagnetica che Faraday scoprì nel 1832: Faraday mostrò come una corrente elettrica che passi attraverso una sonda (*coil*) potrebbe indurre una corrente al *coil* vicino. La corrente nel primo *coil* produce un campo magnetico che, a sua volta, induce la corrente ad entrare nel secondo *coil*. Nella TMS quel secondo *coil* è sostituito dal tessuto cerebrale e il campo elettrico indotto elicit attività neuronale, oppure cambia i potenziali a riposo della membrana nella corteccia sottostante.

A partire dagli studi di Barker (1985), la stimolazione magnetica transcranica si è trasformata in un'efficace procedura nel campo della neurofisiologia clinica e la TMS è diventata un rilevante strumento d'investigazione nel campo delle neuroscienze cognitive.

Amassian e coll. (1989) e Day e coll. (1989) pubblicarono i primi studi sulla TMS come una tecnica di "lesione virtuale" capace di interrompere l'attività corticale, transitoriamente e reversibilmente, nella corteccia visiva e motoria.

Successivamente Pascual-Leone e coll. (1991) riportarono come la stimolazione magnetica transcranica ripetitiva (*repetitive transcranial magnetic stimulation*, rTMS) induceva delle interruzioni del discorso in una popolazione di soggetti epilettici e tre anni più tardi gli stessi autori osservavano in altri esperimenti degli impedimenti visivi.

La TMS è stata adoperata anche nello studio della regolazione dell'umore e delle emozioni, infatti, George e coll. (1996b) osservarono come dopo la stimolazione magnetica transcranica ci fosse una relazione tra miglioramenti dell'umore e cambiamenti del flusso ematico nella corteccia prefrontale di pazienti depressi.

Negli anni seguenti molti studiosi impiegarono la TMS anche per approfondire le conoscenze sulle funzioni cerebrali, come quelle visive, cognitive (Ashbridge e coll., 1997) e, inoltre, partirono i primi studi combinati tra TMS e PET (*positron emission tomography*) (Pause e coll., 1997).

Tra le tante applicazioni neurofisiologiche della TMS, Kosslyn e coll. (1999) combinarono la TMS “distale” e PET per dimostrare il ruolo della corteccia visiva primaria nell'immaginazione mentale.

Successivamente Fierro e coll. (2000) applicarono dei treni d'impulsi magnetici (rTMS) di 25 Hz per 400 ms sulla corteccia parietale destra inducendo una sindrome transitoria visiva che denominarono “*neglect syndrome*” per il fatto che tali pazienti sottostimavano la lunghezza di una linea che li veniva presentata all'emicampo visivo sinistro.

Negli ultimi anni la ricerca sta facendo largo uso della TMS con risultati sorprendenti applicandola negli studi della percezione, attenzione, apprendimento, plasticità cerebrale, linguaggio, consapevolezza ed anche nel trattamento dei disturbi motori, dell'epilessia, dei disturbi d'ansia e della schizofrenia.

## 1.2 Descrizione generale della tecnica

La stimolazione magnetica transcranica (TMS) è un metodo non invasivo capace di stimolare in profondità senza provocare dolore. Lo stimolatore è costituito da una bobina appiattita di rame isolante detta “*coil*” percorsa da una corrente elettrica che crea attorno a sé un flusso magnetico uscente che si dirama, secondo precise linee di forza, ad un’intensità che decresce nello spazio con un indice inversamente proporzionale al quadrato della distanza. Il rapporto fra flusso e unità di spazio corrisponde al Tesla ( $\text{Weber/m}^2$ ). Un comune stimolatore magnetico è in grado di erogare circa 2- 2.5 Tesla.

Il *coil* per la stimolazione magnetica può essere rotondo e convenzionalmente ha un diametro di 8-10 cm, questo prova il fatto che una porzione considerevole di cervello viene attivato. I *coil* a forma di “otto”, o detti a forma di “farfalla”, permettono stimolazioni più focali e al centro di tale figura il campo magnetico è più forte rispetto al punto delle due ali.

Il campo magnetico raggiunge in breve tempo un picco di 1-2 Tesla in circa 50 ms e poi decade a zero nel successivo mezzo secondo, inducendo una corrente elettrica in ogni struttura conduttiva vicina, incluso il cervello, infatti, il cranio e lo scalpo hanno poche impedenze al passaggio di questo tipo di campo magnetico che riesce a penetrare immediatamente nel cervello.

Quando la sede di stimolazione corrisponde all’area motoria primaria e la corrente indotta ha un’intensità superiore ad una determinata soglia di attivazione,

essa eccita la via corticospinale e quindi il II neurone di moto, provocando un MEP nell'emisoma opposto. La sede di stimolo è convenzionalmente il vertice o il cosiddetto "*hot spot*", ovverosia la regione dello scalpo in cui è più facile provocare un MEP nel muscolo target. E' possibile registrare MEP da quasi tutti i muscoli, sebbene quelli distali, in particolare della mano, siano i più idonei.

La stimolazione magnetica attiva la corteccia motoria in maniera diversa alla stimolazione elettrica. La diretta stimolazione elettrica della superficie della corteccia attiva preferenzialmente i punti vicini degli assoni delle grandi cellule del tratto corticospinale. In quest'ultimo caso l'attivazione diretta compare con onde-D del tratto piramidale.

Quando l'intensità degli stimoli aumenta, gli input alle cellule del tratto corticospinale crescono causando l'attivazione sinaptica delle fibre in uscita. In quest'ultimo caso si parla di attivazione indiretta che compare con onde-I del tratto piramidale. Le onde-I si presentano con un certo intervallo e tendono a sincronizzarsi, ciò spiega il perché tali onde sono visibili durante la registrazione della popolazione di cellule del tratto piramidale in attività.

Gli esperimenti che hanno utilizzato le più basse soglie della stimolazione magnetica invece, riportano che tale stimolazione induce, in primo luogo, input sinaptici delle cellule del tratto piramidale mediate dagli interneuroni corticali (onde-I). Solo quando l'intensità della stimolazione aumenta compariranno le onde-D dell'attivazione diretta. Il risultato è che le risposte elettromiografiche (EMG) che sono registrate dopo la TMS, si presentano 1-2 ms più tardi di quelle ottenute con una

stimolazione elettrica transcranica del cervello (Rothwell, 1991). La spiegazione della differenza tra i due tipi di stimolazione sembra essere legata al fatto che la stimolazione magnetica induce corrente elettrica che segue parallela alla superficie del cervello, al contrario la stimolazione elettrica produce una corrente che si dirige prevalentemente in direzione radiale alla superficie del cervello facendo sì che in quest'ultimo caso i neuroni abbiano una più bassa soglia alla stimolazione.

Mediante l'uso dei *coil* è possibile misurare la soglia di eccitabilità di un muscolo target, il tempo di conduzione centrale, la durata del periodo silente, tutti parametri rilevanti.

Per valutare la soglia in cui viene evocata la risposta nel muscolo target, il *coil* deve essere posto sul punto effettivo dello scalpo in modo da indurre una risposta. Quando questo punto è stato trovato, l'intensità dello stimolo deve essere progressivamente ridotto del 2-5% fino a quando la risposta EMG non scompare del tutto. Il tempo tra uno stimolo e l'altro non deve essere superiore a 3 secondi. Se la soglia viene misurata sul muscolo rilassato allora la risposta può essere definita come un MEP (potenziale evocato motorio) di 50-100  $\mu\text{V}$  che si presenta nel 50% di 10-20 prove consecutive. Quando invece le risposte sono evocate su un muscolo attivo, la risposta minima si registra intorno a 200-300  $\mu\text{V}$  per un fenomeno di facilitazione. La soglia di attivazione riflette il grado di eccitabilità della via corticospinale, inclusi i neuroni piramidali, gli interneuroni corticali e i motoneuroni spinali. La soglia motoria misurata durante lo stato rilassato del muscolo target è circa 25% più alta di quella valutata durante attività volontaria del muscolo. Per questo fatto, viene

consigliato l'uso di EMG come feedback per assicurarsi dello stato rilassato del muscolo.

Il tempo di comparsa del MEP, denominato tempo di latenza, dipende dalla velocità delle fibre ed è, quindi, indice di mielinizzazione.

Il tempo di conduzione centrale (*central conduction time*, CCT) si calcola sottraendo il tempo dall'attivazione dei motoneuroni spinali alla risposta del muscolo (latenza periferica), dal tempo di attivazione dei motoneuroni alfa spinali (latenza centrale).

La latenza periferica viene misurata mediante due metodi: la registrazione delle onde-F per valutare il tempo di conduzione dai motoneuroni spinali al muscolo e la diretta stimolazione, elettrica o magnetica, delle radici efferenti e dei nervi sovraspinali. In quest'ultimo caso, sia la stimolazione magnetica che quella elettrica, danno le stesse latenze periferiche sebbene quando viene utilizzata la prima non è possibile garantire che la risposta EMG sia quella massimale dato che le radici cervicali che si eccitano sono lontane 3 cm dal punto anteriore della cellula e il tempo di conduzione misurato non è quello relativo al segmento dal motoneurone alfa al punto d'uscita; questa distanza è ancora più lunga per la regione lombosacrale dove la conduzione, dal motoneurone alfa lungo la cauda equina alla zona segmentale d'uscita, ci impiega da 2 a 3 ms. Questo inconveniente suggerisce che la stimolazione magnetica delle radici non è completamente precisa per la misurazione del CCT, infatti, viene impiegata più frequentemente la registrazione delle onde-F. Le onde-F vengono prodotte in stato rilassato da una stimolazione sopramassimale alle fibre

motorie periferiche vicino al muscolo esaminato. Gli stimoli producono una via ortodromica nei nervi motori dando origine ad una breve latenza di risposta del muscolo (onda-M). Successivamente si forma una via di ritorno che si propaga fino ai motoneuroni spinali provocando l'eccitazione dei motoneuroni spinali  $\alpha$  ( $\alpha$ -MN) e una via efferente ortodromica lungo il nervo motorio che causa un ritardo, di piccola ampiezza, nella risposta del muscolo chiamata "onda-F" (Kimura, 1983).

Per quanto riguarda la misurazione della latenza motoria centrale, essa si calcola sottraendo la latenza periferica dal tempo di conduzione totale al muscolo. Questa misura dipende da tre fattori: il tempo che lo stimolo magnetico impiega ad attivare gli assoni corticospinali, la velocità di tali assoni e infine, il tempo necessario per l'attivazione dei motoneuroni spinali. L'intensità degli stimoli e l'orientamento del *coil* influenzano il primo di tali fattori e il livello di eccitabilità del segmento spinale influenza l'ultimo di essi. Quindi il tempo che lo stimolo magnetico impiega per attivare gli assoni corticospinali è più breve se il *coil* si orienta in modo da produrre un'attivazione-D piuttosto che l'usuale attivazione-I e ancora, il tempo necessario per l'attivazione dei motoneuroni spinali è più lungo se i soggetti sono rilassati, infatti, in caso di attività, i motoneuroni spinali scaricano dopo dei potenziali post-sinaptici eccitatori (EPSP) legati a più vie discendenti. Convenzionalmente, quindi, la latenza motoria centrale viene calcolata durante la contrazione attiva del muscolo (massimo 10-20%) con un'intensità di 120-150% soprasoglia. L'orientamento del *coil*, per la stimolazione dell'area della mano, deve poter produrre l'attivazione di onde-I (con corrente indotta che segue una direzione postero-anteriore, perpendicolare al solco

centrale); per la stimolazione dell'area della gamba, il coil produce spesso attivazione-D.

Un altro parametro ottenibile da uno studio con TMS è il periodo silente (*silent period*, SP) che non viene annoverato tra i precedenti effetti eccitatori della TMS ma, semmai, tra i fenomeni negativi. Il periodo silente è un lungo momento di silenzio EMG durante una prolungata contrazione volontaria; questa fase segue un'imminente eccitazione come se fosse provocata dal MEP (Fuhr e coll., 1991).

Il periodo silente si ottiene, quindi, erogando uno stimolo soprasoglia durante una contrazione submassimale volontaria del muscolo target, il risultato è una transitoria inibizione dell'attività muscolare di durata proporzionale all'intensità di stimolo. Questo fenomeno indotto dalla TMS è prettamente corticale e, anche se la precisa origine sia incerta, sembra che esso sia provocato dall'attivazione di vie inibitorie sia cerebrali che in minima parte spinali. I periodi silenti non sono identici per tutti i muscoli: per una determinata intensità di uno stimolo essi sono più lunghi nei muscoli della mano (fino a 200-300 ms) e meno prominenti nei muscoli delle braccia e delle gambe, quindi, la rappresentazione del muscolo sulla corteccia motoria gioca un ruolo importante. La durata del periodo silente aumenta per alte intensità dello stimolo.



## 1.3 La stimolazione magnetica corticale

### 1.3.1 I diversi paradigmi

Gli stimolatori magnetici inducono un flusso di corrente che segue in una data direzione ed essa è sempre bilanciata da un flusso di corrente che segue nella direzione opposta. Nel caso degli stimolatori che producono un impulso di corrente “bifasico” (come lo stimolatore *Caldwell*), il flusso di corrente di ritorno è simile al flusso di corrente iniziale. Gli stimolatori che generano un impulso di corrente “monofasico” (come gli stimolatori *Magstim* o *Dantec*), hanno la caratteristica di erogare un flusso di corrente iniziale rapido e, questo, è successivamente bilanciato da una corrente di ritorno più piccola e di durata 10-20 volte maggiore del primo flusso di corrente. Poiché la direzione del flusso di corrente determina l’attivazione degli elementi neurali corticali, se la corrente di ritorno è modesta (nell’impulso “monofasico”), si presume che essa possa produrre un’esigua attivazione fisiologica nel cervello. Al contrario, l’impulso “bifasico” può stimolare diverse popolazioni di cellule.

Di recente introduzione è la tecnica di TMS a “doppio stimolo” (*paired TMS paradigm*) (Rothwell e coll., 1991; Kujirai e coll., 1993; Ridding e coll., 1995b; Rothwell, 1996; Ziemann e coll., 1996d). Essa è stata presentata come una tecnica non invasiva capace di studiare l’integrità e l’eccitabilità dei circuiti neuronali

eccitatori e inibitori della corteccia motoria. La tecnica di TMS a “doppio stimolo” prevede l’erogazione di due stimoli magnetici ravvicinati nel tempo a partenza da un unico *coil*, di cui il primo chiamato stimolo condizionante (SC) e il secondo detto stimolo test (ST). L’intervallo che separa i due stimoli corrisponde all’intervallo interstimolo (*interstimulus intervals*, ISI).

Ci sono diversi protocolli di *paired TMS* con differenti implicazioni fisiologiche:

- l’impiego di due stimoli con soglie vicine (Tokimura e coll., 1996);
- un primo stimolo soprasoglia seguito, dopo un intervallo di tempo breve di 0,5-5 ms, da un secondo stimolo sottosoglia (Ziemann e coll., 1998b,c);
- due stimoli soprasoglia divisi da un lungo intervallo di tempo (20-200ms) (Claus e coll., 1992 e Valls-Sole e coll., 1992);
- due *coil* posti su aree diverse dello scalpo (Ferber e coll., 1992; Ugawa e coll., 1995; Werhahn e coll., 1996).

Generalmente, gli studi che si servono della TMS a “doppio stimolo” usano un piccolo muscolo della mano per le registrazioni EMG dei potenziali evocati motori (MEP). La stimolazione magnetica si eroga da un *coil* a forma di otto che viene posto sul sito cosiddetto “ottimale” (*optimal site*) dello scalpo, al di sopra dell’area della mano rappresentata sulla corteccia motoria, controlaterale al muscolo target per provocare un MEP. L’intensità della stimolazione e lo stato del muscolo, attivo o a riposo, modulano gli effetti eccitatori ed inibitori sui MEP e la quantità dell’inibizione è inversamente proporzionale all’ampiezza dello stimolo condizionante. Per ISI minori di 5 ms, con il soggetto a riposo, lo stimolo

condizionante sottosoglia (80% della soglia attiva) inibisce lo stimolo test soprasoglia (120% della soglia) e tale inibizione è meno evidente nel caso di una contrazione volontaria con lo stimolo condizionante al 90% della soglia attiva motoria (Ziemann e coll., 1996d; Di Lazzaro e coll., 1998). Infatti per un ISI compreso fra 1 e 6 ms lo stimolo condizionante eccita circuiti inibitori gabaergici intracorticali che provocano una riduzione d'ampiezza del MEP evocato dallo stimolo test (Kujirai e coll., 1993). La massima quantità d'inibizione si ha a ISI di 1-3 ms.

Ad un intervallo interstimolo di circa 5 ms l'effetto dello stimolo condizionante passa da quello inibitorio a quello facilitatorio; infatti con ISI di 7-20 ms, con il soggetto a riposo, lo stimolo condizionante eccita circuiti intracorticali più lenti, a significato facilitatorio, capaci d'aumentare l'ampiezza del MEP (Kujirai e coll., 1993; Ziemann e coll., 1996d; Nakamura e coll., 1997). Il massimo di tale facilitazione può variare da soggetto a soggetto, ma di solito esso si situa tra 120-200% del MEP test.

Negli esperimenti che hanno usato ISI più lunghi nel muscolo attivo (Valls-Solè e coll., 1992), sia lo stimolo condizionante che lo stimolo test venivano impiegati a uguale intensità e, se entrambi erano soprasoglia, si osservava un'inibizione della risposta allo stimolo test tra i 30 e 200 ms con un massimo a 80 ms. Se l'intensità della stimolazione veniva aumentata notevolmente, vi era una completa soppressione della risposta test a 100 ms e una forte inibizione a 200 ms (Berardelli e coll., 1996).

Gli effetti inibitori e facilitatori dello stimolo condizionante a determinati ISI, possono servire per calcolare rispettivamente le inibizioni e facilitazioni intracorticali

(o cortico-corticali) (Ridding e coll., 1995b). Questi effetti sono stati osservati, in maniera simile, non solo nei muscoli della mano, ma anche nei muscoli della gamba (Stokic e coll., 1997; Chen e coll., 1998b) e nei muscoli prossimali del braccio (Chen e coll., 1998b; Ziemann e coll., 1998d). Ciò suggerisce il fatto che la rete intracorticale che regola l'eccitabilità della corteccia motoria corticospinale d'uscita, è simile alle diverse rappresentazioni motorie. E' probabile che gli effetti facilitatori osservati ad ISI brevi in questi paradigmi siano dovuti alle interazioni delle onde I (Tokimura e coll., 1996; Ziemann e coll., 1998b).

La TMS a “doppio stimolo” consente anche uno studio dei meccanismi interemisferici: attraverso l'impiego di una doppia stimolazione erogata da due *coil* focali posti su aree omologhe dello scalpo è possibile testare le influenze eccitatorie ed inibitorie delle fibre transcallosali che connettono le aree motorie primarie dei due emisferi e gli effetti incrociati della stimolazione transcranica del cervelletto (Ferber e coll., 1992).

Per facilitare dei MEP, oltre alla semplice attivazione del muscolo, ci sono una varietà di esercizi da mettere in atto. Infatti la facilitazione può essere realizzata da movimenti sequenziali della mano, dall'immaginazione di tali movimenti, dalla stimolazione di nervi afferenti sensoriali o dall'erogazione sequenziale di impulsi magnetici transcranici (Delitis e coll., 1987; Abruzzese e coll., 1996; Rossi e coll., 1998).

Mediante la TMS è possibile effettuare la mappatura (*mapping*) dell'organizzazione somatotopica della corteccia motoria (Wassermann e coll., 1992).

La TMS attiva preferenzialmente le fibre a rapida conduzione cortico-spinale e ciò indica che le mappe TMS potrebbero essere associate all'origine e alla distribuzione delle proiezioni più dirette e alle fibre di output a conduzione veloce della corteccia motoria. Per tale scopo viene meglio utilizzato un *coil* a forma di otto e per effettuare una mappatura accurata è preferibile avere dispositivi meccanici che mantengano la testa e il *coil* in una posizione stabile. In mancanza di questi è, comunque, accettabile tenere il *coil* con la mano sopra un punto specifico della testa. Inoltre, piuttosto che segnare le posizioni sullo scalpo, è più conveniente per i soggetti indossare una cuffia elastica e fare i segni sulla cuffia, in questo modo i segni non andranno persi fra i capelli.

E' possibile quantificare il centro della mappa attraverso le curve di adattamento o alla somma ponderata dell'ampiezza dei MEP. Quando il *coil* è posto lontano dal centro della mappa l'ampiezza dei MEP diminuisce. Questo fenomeno può essere spiegato attraverso due meccanismi. In primo luogo o la densità o l'eccitabilità delle fibre cortico-spinali a conduzione veloce potrebbero diminuire con l'aumento della distanza dal centro della mappa. In secondo luogo, le cellule eccitabili potrebbero essere confinate solo in una piccola regione e la diminuzione dell'ampiezza dei MEP potrebbe essere dovuta alla diminuita efficacia della stimolazione, a causa della diffusione della corrente.

E' stato studiato quanto spazio dello scalpo deve essere coperto dal *coil* per effettuare una precisa mappatura in un periodo di tempo ragionevole e si è arrivati alla conclusione che è necessario almeno 1 cm di spazio per APB (*abductor pollicis*

*brevis*: brevi abduttori del pollice), bicipiti e tibiali anteriori e di 2 cm per FCR (flessori carpo radiali) e deltoidi. Le differenze parte a parte sono minime per APB (sopra ad 1 cm nell'asse coronale) e massime per FCR, bicipiti e deltoidi (sopra ai 2 cm nell'asse coronale) (Brasil-Neto e coll., 1992).

Dato che la distribuzione spaziale della proiezione corticale ad un singolo muscolo dipende dall'intensità della stimolazione e dall'eccitabilità della corteccia sottostante, è convenzione misurare il centro di gravità dell'area di proiezione. Questo fornisce una misura che prende in considerazione tutte le osservazioni raggiungendo l'ampiezza media a ogni posizione. Il centro di gravità potrebbe essere relativamente indipendente dalla forza dello stimolo e dall'eccitabilità corticale. Il numero di posizioni che producono un MEP è chiamata "area di proiezione corticale" (Rothwell e coll., 1999).

Diversi studi hanno dimostrato che il centro di gravità della proiezione corticale ad un determinato muscolo, è relativo all'area corticale attivata durante la contrazione volontaria di quel muscolo, ciò è quanto è stato provato anche mediante misurazioni PET (*positron emission tomography*), fMRI (*functional magnetic resonance imaging*), EEG e EMG (Wassermann e coll., 1996b).

Mediante l'uso della TMS è possibile la mappatura non solo della corteccia motoria, ma anche di altre regioni corticali. La stimolazione magnetica transcranica della corteccia occipitale, per esempio, può evocare dei fosfeni nel campo visivo.

Questi punti bianchi e indifferenziati nel campo visivo dipendono dall'esatta posizione del *coil* sull'area occipitale e dalla direzione della corrente indotta nel

cervello. Inoltre, la TMS nell'area corticale visiva 5 (V5) ad intervalli tra -20 e +10 ms, prima e dopo la presentazione di uno stimolo visivo, sopprime la percezione del movimento dello stesso stimolo.

Anche per quanto riguarda la corteccia somatosensoriale, la TMS può provocare, occasionalmente, delle parestesie oppure può bloccare, al dito di una mano, la capacità di sentire uno stimolo sensitivo.

Infine, la TMS alla corteccia premotoria può ritardare la scelta del tempo di reazione.

### *1.3.2 Applicazioni neurofisiologiche*

Gli stimolatori magnetici, grazie alle loro proprietà fisiche, possono essere usati per attivare le strutture nervose periferiche, persino quando essi sono posti anche ad una certa distanza dalla pelle. Un esempio è costituito dal nervo sciatico che può essere stimolato nella coscia, mentre non risulta eccitabile dai convenzionali stimoli elettrici non invasivi. Comunque, questa nuova tecnica non ha sostituito gli studi di conduzione nervosa, eccetto per misurare il tempo di conduzione in parti inaccessibili del sistema nervoso periferico.

Mediante ampi *coil* circolari, più efficienti per stimolare strutture profonde, è difficile determinare il punto preciso in cui avviene l'eccitazione nervosa, invece *coil* a forma di otto, più focali, non assicurano una stimolazione sopramassimale. Per questo è difficoltoso verificare la presenza di un blocco della conduzione in radici prossimali o in strutture nervose profonde. Inoltre, la stimolazione magnetica può non attivare la porzione intradurale delle radici motorie, per esempio nella cauda equina.

Tuttavia, ci sono degli studi clinici che si stanno interessando ampiamente della stimolazione magnetica di radici o nervi.

La stimolazione magnetica del midollo spinale nelle sue parti cervicale e lombare attiva le radici motorie al foramen vertebrale e produce risposte muscolari simili a quelle ottenute con la stimolazione elettrica sulla stessa regione cerebrale.

Generalmente, le risposte più ampie sono ottenute nei muscoli della mano, collocando la parte più bassa del *coil* ad ampio diametro circolare sulla parte inferiore della regione cervicale. Il punto in cui s'incrociano le "ali" del *coil*, dovrebbe seguire l'orientamento delle radici. Anche se ci sono marcate differenze interindividuali nell'esatto posizionamento del *coil*, in realtà, le risposte per una data posizione del *coil* sono riproducibili. Le ampiezze dei CMAP (*compound muscle action potentials*) evocati sono raramente massimali. La stimolazione magnetica spinale attiva simultaneamente diverse radici, così che le risposte registrate in un determinato muscolo possono essere contaminate da quelle registrate in muscoli vicini, innervati da altri nervi. Ciò è vero, soprattutto, per quanto riguarda i muscoli del braccio e dell'avambraccio. Nel caso in cui le risposte di un muscolo siano influenzate da



quelle di altri muscoli innervati da nervi a più rapida conduzione, si potrebbero ottenere valori molto bassi per il tempo di conduzione motorio periferico. E' possibile risolvere questo problema confrontando le forme delle risposte in un determinato muscolo ottenute dalla stimolazione spinale magnetica e dalla stimolazione elettrica periferica, oppure servendosi di registrazioni coassiali, con l'uso di aghi nel muscolo di interesse.

E' possibile misurare il tempo di conduzione nei nervi periferici e nelle radici con la stimolazione magnetica della regione lombosacrale della spina dorsale.

Tuttavia i *coil* circolari convenzionali non permettono di rilevare la conduzione nella cauda equina, ma solo a livello del foramen vertebrale. In questo caso ci sono dei metodi alternativi: la misurazione delle onde F (Rossini e coll., 1987a,b), la stimolazione magnetica sul cono medullare con *coil* appositamente progettati (Maccabee e coll., 1991), o impiegando la stimolazione elettrica sottocutanea nella stessa regione (Maertens de Noordhout e coll., 1988). Gli ultimi due metodi hanno il vantaggio di permettere la misurazione del tempo di conduzione nella cauda equina.

Alcuni autori (Chokroverty e coll., 1991) hanno utilizzato ampi *coil* magnetici per stimolare nervi situati in profondità nell'ambito delle radiculopatie lombari. Nel caso, per esempio, di ernia al disco, si dovrebbe aspettare una latenza significativa e prolungata di CMAP o una loro riduzione di ampiezza, ma a causa di forti variazioni interindividuali d'ampiezza di CMAP evocati dalla stimolazione magnetica delle radici e dalla mancata presenza di risposte massimali in soggetti normali, è difficile dimostrare un blocco di conduzione nel plesso segmentale o nelle radici utilizzando i

criteri ordinari. Tuttavia, questa tecnica può essere d'aiuto nella localizzazione di lesioni evidenti di nervi profondi, come le lesioni del nervo sciatico nella coscia, oppure per valutazioni precoci della funzione del plesso brachiale dopo un forte trauma. In quest'ultimo caso, l'EMG con aghi non viene impiegata per la scarsa cooperazione dei pazienti che spesso non sono coscienti e, allora, la conduzione dei nervi può restare normale per qualche giorno.

La stimolazione magnetica della regione cervicale con registrazioni multiple può aiutare a valutare l'estensione del danno alle radici o ai plessi. E' possibile, inoltre, conoscere il livello di anormalità nella propagazione dell'impulso motorio nel midollo spinale attraverso registrazioni simultanee da muscoli distali e prossimali, con diverse innervazioni mielomeriche.

Un'altra applicazione della TMS è la stimolazione del nervo facciale. In soggetti con intervento alla fossa posteriore, la stimolazione magnetica sulla regione mastoide attiva il nervo facciale nella parte labirintica del canale facciale, cioè vicino al sito dove si presenta il danno nervoso nella paralisi di Bell (Rosler e coll., 1991). In questo caso l'esatta posizione del *coil* dovrebbe essere la regione parieto-occipitale ipsilaterale al nervo. Nella paralisi di Bell la stimolazione magnetica risulta insufficiente per stimolare il nervo facciale (e rimane non eccitabile anche dopo recupero clinico), mentre esso appare parzialmente eccitabile dalla stimolazione elettrica al foramen stilomastoideo. Inoltre, la stimolazione magnetica sembra essere molto sensibile a rilevare lesioni controlaterali clinicamente silenti.

Negli ultimi anni, anche le neuroscienze cognitive si sono servite, come nuovo strumento, della TMS. Infatti, l'EEG e l'EMG, anche se rilevano l'attività neuronale durante *performance* cognitive con una buona risoluzione temporale, non identificano esattamente il punto preciso del cervello in cui avviene l'attivazione neuronale.

Contrariamente, mentre la PET e la fMRI hanno una buona risoluzione spaziale delle aree del cervello coinvolte in compiti che richiedono determinate *performance* cognitive, non possiedono una buona risoluzione temporale. La TMS sembra avere una buona risoluzione spaziale che temporale. Infatti, la TMS viene utilizzata dalle neuroscienze cognitive per indurre una transitoria interruzione della normale attività cerebrale (chiamata "lesione virtuale") in una ristretta area del cervello durante compiti che richiedono competenze cognitive, con una precisione che richiede, quindi, un'alta risoluzione temporale e spaziale. Il vantaggio riguarderebbe la possibilità, a differenza degli studi su soggetti con lesioni cerebrali dovute a danni subiti o a disturbi, di scegliere la posizione della lesione per testare specifiche teorie o ipotesi relative a funzioni cognitive, assunto che si raggiunga una conoscenza adeguata delle dinamiche spaziali e temporali della TMS (Fitzpatrick e coll., 2000).

Per quanto riguarda la risoluzione spaziale, alcuni autori parlano di una risoluzione in millimetri, altri in centimetri ma, comunque, la localizzazione della TMS dipende da vari fattori: la distribuzione del campo magnetico erogato dal *coil*, l'intensità e la forma d'onda dell'impulso e le proprietà conduttive del cervello. Per incrementare la sicurezza nella localizzazione della stimolazione, gli studi cognitivi hanno utilizzato un compito di controllo per dimostrare come due processi sono

funzionalmente dissociati sia nello spazio che nel tempo. I primi studi combinati tra TMS e PET (Paus e coll., 1997; Fox e coll., 1997) mostrano anche che la TMS induce non solo attività neuronale al di sotto il punto di stimolazione, ma ha degli effetti sulle strutture lontane dal punto in cui è stato posto il *coil*. Tuttavia, gli effetti della TMS sono limitati a regioni corticali superficiali e non può essere impiegata per studiare le funzioni della corteccia mediale e delle strutture sottocorticali. Inoltre, la stimolazione di strutture corticali più profonde potrebbe indurre eccitazione anche nella corteccia sovrastante. Una possibile soluzione a questo problema potrebbe essere quella di stimolare aree che sono accessibili nei primati non umani ma non nell'uomo.

Per quanto riguarda la risoluzione temporale della TMS, quando un suo impulso viene erogato su un'area della corteccia, l'effetto è l'attivazione simultanea di molti neuroni. Al punto di massima attivazione, l'area stimolata avrà poi un più basso segnale o “rumore neuronale” (“*neuronal noise*”). Infatti, la TMS interferisce con il normale processamento delle informazioni a livello corticale e per questo è stato introdotto il concetto di “meccanismo di interferenza”.

L'effetto della TMS potrebbe, dunque, essere descritto come l'induzione di rumore nei processi neurali. La corrente prodotta dal *coil* della TMS genera un campo magnetico che, a sua volta, determina la depolarizzazione sincrona dei neuroni nella specifica regione cerebrale sotto il *coil*. Allorquando la TMS viene applicata su un'area sede di uno specifico compito cognitivo, la conseguente depolarizzazione neuronale interferisce con la capacità di portare a termine il compito. A partire da

queste conoscenze, è stato possibile servirsi della TMS per ricreare temporaneamente dei deficit osservati in alcuni pazienti neuropsicologici o ricreare deficit rari.

Creare lesioni temporanee non è la sola applicazione della TMS rilevante per la neuroscienza cognitiva. In altri laboratori è usata per studiare la plasticità corticale e gli effetti delle droghe, di ormoni, e disturbi dell'eccitabilità corticale.

Wassermann e coll. (1998) e Rothwell e coll. (1989) hanno studiato il modo in cui la TMS altera la funzione neuronale. Questi autori hanno osservato come la depolarizzazione sincrona dei neuroni esposti alla corrente sia seguita da un periodo di inibizione probabilmente mediato da sinapsi GABAergiche. Le sostanze che aumentano la sensibilità dei recettori GABA o aumentano il rilascio di GABA determinano un deciso aumento dell'inibizione. Si ritiene che i meccanismi attraverso i quali la TMS riesca ad aumentare la forza delle sinapsi GABAergiche si riferiscano alla connettività intracorticale. Dopo l'inibizione segue un periodo di facilitazione in cui è sufficiente una minore corrente per indurre depolarizzazione. L'effetto che si osserva è una distribuzione delle normali attivazioni neuronali su tempi diversi. Per questo motivo alcuni autori (Fitzpatrick e Rothman, 2000) ritengono che il termine "lesione virtuale" non sia propriamente esatto.

Se la TMS modifica il peso delle sinapsi, questa tecnica potrebbe essere utile per esaminare la plasticità sinaptica. Paus e coll. (2001) hanno indicato la presenza di un effetto tempo-dipendente a breve termine sulle sinapsi. Se vengono rilasciati due impulsi accoppiati l'effetto cumulativo che ne deriva può essere facilitatorio o inibitorio. Ciò dipende dal tempo che separa i due impulsi. Per quanto riguarda la

questione dell'aspetto temporale degli effetti della TMS sulle sinapsi, Fox e coll. (1997) hanno sottolineato che il potenziamento a lungo termine indotto da TMS (*TMS-induced long-term potentiation*, LTP) può durare per diverse ore, mentre la riduzione a lungo termine (*long-term depression*, LTD) può mantenersi fino a ventiquattro ore.

La maggior parte della conoscenza sul modo in cui la TMS agisce sulla funzione neurale deriva dagli studi sulla corteccia motoria umana. Tuttavia, alcune questioni (ad esempio, il modo di agire della TMS sulla funzione neuronale a breve e a lungo termine, o quali diverse sottopopolazioni di neuroni sono più sensibili agli effetti della TMS) non possono trovare risposta con gli studi sull'uomo. E' possibile ottenere maggiori informazioni ricorrendo agli studi sugli animali, anche se essi non sono privi di limitazioni, come le difficoltà tecniche nella costruzione dei *coil* della grandezza richiesta per stimolare distinte regioni cerebrali. I risultati di tali lavori indicano che la TMS può provocare cambiamenti simili agli effetti sia del LTD che del LTP. La stimolazione magnetica transcranica provoca alcune modificazioni nei sistemi neurotrasmettitoriali. Applicazioni croniche di TMS provocherebbero il cosiddetto "*dendritic sprouting*" (la nascita e lo sviluppo di fibre che raggiungono nuove terminazioni cellulari) e un aumento del numero delle sinapsi. Considerando questi effetti, resta aperto il problema se la TMS possa essere considerata una tecnica non invasiva. Emilio Bizzi (1987) sottolinea il fatto che gli studi della TMS sui primati dovrebbero essere accompagnati a tecniche di monitoraggio più invasive,

come registrazioni di singole cellule, per poter ottenere delle risposte più precise alle questioni circa gli effetti neurochimici e neurofisiologici della TMS.

Un'area delle neuroscienze cognitive dove la TMS può apportare un contributo rilevante, è nell'ambito degli studi che cercano di valutare le basi biologiche dell'apprendimento. Gli studi con PET mostrano che la regione del cervello attivata mentre un soggetto esegue un nuovo compito non è la stessa alla regione cerebrale che si attiva quando il soggetto che esegue un compito è già specializzato in esso (Peterson e coll., 1994). Alcune ricerche hanno mostrato che la TMS di un'area coinvolta nell'acquisizione di un'abilità non interrompe l'abilità già acquisita precedentemente dal soggetto. Cohen e collaboratori (1998), infatti, utilizzando dei neurolettici, hanno mostrato come la TMS potrebbe influenzare la plasticità corticale modulando l'effetto inibitorio delle sinapsi GABAergiche. Questi risultati sollevano degli interrogativi sul modello classico di apprendimento, il quale richiede la modulazione delle sinapsi eccitatorie glutaminergiche.

Le misure circa l'inibizione e la facilitazione intracorticale possono essere utilizzate per aumentare le conoscenze sull'influenza dei farmaci sull'eccitabilità della corteccia motoria umana. Tutti questi lavori furono condotti su soggetti sani che venivano esposti ad una singola dose o a tre dosi di farmaci. Valutando l'inibizione e la facilitazione intracorticale prima e dopo l'assunzione di farmaci, si osservò che l'acido- $\gamma$ -aminobutirrico (GABA) (Inghilleri e coll., 1996; Ziemann e coll., 1995, 1996b,c) e l'N-metil-D-aspartato (NMDA) (Liepert e coll., 1997; Ziemann e coll., 1996b, 1998a) inducevano un rialzo dell'inibizione e la soppressione della

facilitazione intracorticale, gli effetti della dopamina (recettore agonista) non sono ancora del tutto chiari (Ziemann e coll., 1996a, 1997), la dopamina D2 (recettore antagonista dell'aloiperidolo) diminuiva l'inibizione intracorticale e ne aumentava la facilitazione (Ziemann e coll., 1997), infine, i farmaci antiepilettici, che bloccano i canali del sodio e calcio ma che non hanno degli effetti rilevanti sul resto di sistemi neurotrasmettitoriali, come carbamazepina o fenitoina, non inducevano dei cambiamenti consistenti nell'inibizione e facilitazione intracorticale (Chen e coll., 1997b; Schulze-Bonhage e coll., 1996; Ziemann e coll., 1996b). Tutti questi effetti dei farmaci erano temporanei. Comunque, i vari studi non sempre concordavano nei loro risultati.

L'osservazione e lo studio di pazienti con deficit neuropsicologici ha ampliato le conoscenze sulla relazione cervello-comportamento e ha apportato nuove informazioni sui sistemi di memoria del lobo temporale, sulle funzioni visuo-spaziali dei lobi parietali, sui differenti ruoli degli emisferi cerebrali, sul ruolo dei lobi occipitali nella visione e sulla specializzazione funzionale della visione. Oggetto di studio è, dunque, in questi casi il sistema nervoso danneggiato. Tuttavia, il cervello dopo un deficit può essere andato incontro a processi di riorganizzazione e l'individuo può aver acquisito una serie di strategie compensatorie per far fronte al danno. Gli studi neurofisiologici valutano la capacità del SNC di compensare perdite funzionali dovute a lesioni o danni, con la messa in opera di altri circuiti neuronali che sostituiscono quello/i danneggiato/i. Si tratta di ciò che Lomber (1999) ha definito "spettro della compensazione". La TMS, generando una breve, reversibile



interruzione della funzione corticale, protegge dallo “spettro di compensazione”. Ciò favorisce lo studio delle funzioni del sistema nervoso in condizioni normali.

In tale contesto si può citare lo studio di Olivieri e collaboratori (1999a,b) che usarono la TMS per esplorare la plasticità corticale compensativa dopo una lesione. Essi chiesero a dei soggetti normali di controllo di riferire la sensibilità di stimoli elettrici deboli applicati al primo, terzo, quinto dito di una o entrambe le loro mani.

Un singolo impulso di TMS alla corteccia parietale destra, 20 o 40 ms dopo la stimolazione delle dita, ridusse la capacità dei soggetti di captare l’input in una mano, particolarmente se entrambe le mani venivano stimulate nello stesso tempo.

Applicando la TMS solo alla corteccia parietale sinistra l’effetto era simile al precedente ma più attenuato, al contrario la stimolazione alla corteccia frontale non dava nessun effetto. Olivieri e collaboratori conclusero che i soggetti avessero una dominanza emisferica destra per la percezione degli stimoli e che le regioni parietali si attivassero nel processo che segue 20 o 40 ms la presentazione di uno stimolo.

Successivamente Olivieri e coll. (1999b) applicarono la TMS a pazienti con delle lesioni all’emisfero destro. Questi soggetti non rilevavano la stimolazione, che avveniva in entrambe le mani, sul lato sinistro. La TMS alla corteccia frontale sinistra e non in quella parietale, riduceva l’incapacità dei soggetti di percepire gli stimoli.

Quindi, l’emisfero sano tende a ripristinare l’attenzione spaziale al lato controlaterale lesionato. Questi risultati confermano come l’attenzione spaziale possa essere spiegata in termini di meccanismi interemisferici, asimmetrici tra strutture sottocorticali e corticali. Inoltre, è possibile impiegare la TMS, o forse la rTMS, per

indurre dei lunghi cambiamenti nell'eccitabilità corticale per la riabilitazione dei pazienti affetti da “*neglect*”.

Amassian e collaboratori (1989) sono stati i primi a dimostrare l'importanza dell'uso della TMS negli studi psicologici della visione. Essi hanno erogato un singolo impulso TMS al di sopra la corteccia occipitale di soggetti mentre eseguivano un compito di identificazione letterale. La prestazione venne interrotta dall'applicazione della TMS tra gli 80 e 100 ms dopo gli stimoli, tanto che i soggetti erano incapaci di identificare le lettere.

Una delle più recenti controversie riguardano la consapevolezza visiva, principalmente se le aree secondarie visive, come la V4 e la V5, siano sufficienti a provocare consapevolezza di una determinata qualità (per esempio colore e movimento), o se esse devono interagire con l'area primaria visiva (V1) per generare consapevolezza visiva (Barbur e coll., 1993; Cowey e Stoerig, 1991). In uno studio recente, Cowey e Walsh (2000, in stampa) hanno mostrato che la TMS può essere usata per esplorare il substrato neuronale della consapevolezza visiva. Essi hanno indotto dei fosfeni (percezioni illusorie di movimento di luci) mediante la TMS per esaminare l'integrità della corteccia visiva in un soggetto con la corteccia striata dell'emisfero sinistro lesionata quasi totalmente. La TMS al di sopra l'area V5 provoca i fosfeni in individui normali (Stewart e coll., 1999; Hotson e coll., 1994), ma la questione è se la TMS può indurre i fosfeni in assenza dell'area V1. Si è scoperto che la percezione di movimento è elicitata dalla stimolazione di V5 solo quando V1 nello stesso emisfero è intatta. Nel caso in cui V1 risulti danneggiata

l'effetto non può essere ottenuto. L'interazione V5-V1 si è dimostrata fondamentale anche nel caso di un paziente cieco nella periferia del campo visivo con distruzione dei nervi ottici ma integrità di V1 di entrambi gli emisferi (Cowey e Walsh, in stampa). In questo caso la stimolazione di V5 ha determinato la produzione di fosfeni di movimento.

Recenti studi neurofisiologici hanno registrato il tempo di interazione tra la corteccia extrastriata e striata dalla disattivazione di V5, mentre si registra da V1.

L'effetto di tale disattivazione, avviene nei primi 10 ms circa della risposta di V1.

Studiando, attraverso la TMS, le proiezioni di ritorno nell'uomo è possibile comprendere la veloce e continua comunicazione tra V1 e V5. Il risultato della stimolazione di V5 è la produzione di una percezione di fosfeni di movimento, ma se V1 viene stimolata in un arco di tempo critico dell'interazione V1-V5 questo effetto risulta intaccato o interamente abolito. Ciò non significa che il movimento è percepito da V1, ma che questa regione corticale è indispensabile per la percezione del movimento.

Sono conosciuti anche gli effetti della TMS sul linguaggio. Infatti, la TMS può indurre un'interruzione del discorso dissociato dagli effetti motori (Pascual-Leone e coll., 1991; Grafman e coll., 1994). Ci sono stati degli studi che, applicando la TMS sulla corteccia frontale sinistra, hanno interrotto non solo la produzione del discorso, ma anche il richiamo verbale (Grafman e coll., 1994) e l'accoppiamento di figure-parole (Flitman e coll., 1998). La TMS sulla regione posteriore relativa ai sistemi associati al linguaggio ha fornito risultati contrastanti: una facilitazione nella

denominazione di figure (Topper e coll., 1998) o, al contrario, un effetto disturbante (Stewart e coll., in corso di stampa).

Mentre è chiaro che i processi del linguaggio possono essere influenzati dalla TMS, non è ancora del tutto chiaro quali siti siano più vulnerabili alla disorganizzazione mediata dalla TMS.

Gli studi della memoria mediante TMS sono ancora agli albori (Grafman, 2000).

Ferbert e coll. (1991) impiegarono la TMS sulla corteccia motoria; in un primo esperimento con volontari sani, presentò visivamente delle parole non-senso pronunciabili e, ciascun blocco di sei parole erano seguite immediatamente da sei stimoli magnetici con una intensità di 60, 80 e 100%. Dopo ogni blocco di parole, ai soggetti veniva somministrato un test libero di richiamo e un test di riconoscimento.

Dei soggetti di controllo venivano sottoposti alla stessa procedura ma, con una intensità del campo magnetico a zero. Si osservò una significativa ma bassa riduzione delle prestazioni che richiedevano la memoria a breve termine solo nel caso in cui si usava un campo magnetica al 100% della sua intensità. In un secondo esperimento Ferbert e coll. notarono gli stessi effetti del precedente anche stimolando mediante TMS la spina cervicale. Questo suggerì che la diminuzione del richiamo delle parole nel primo esperimento non era dovuto ad un effetto specifico, corticale della TMS sulla memoria.

A volte i risultati di studi TMS possono mettere in forse quelli di teorie classiche sulle lesioni ed è, dunque, fondamentale la distinzione tra lesioni reali e lesioni virtuali. La differenza fondamentale tra esse, può essere dovuta ad effetti di

riorganizzazione o di diaschisi (modificazioni nell'attività e nella funzione di siti anatomicamente connessi alla lesione). Le conseguenze teoriche e forse pratiche della comprensione circa i tempi di diaschisi e di riorganizzazione possono essere considerevoli (Kapur, 1996) e alcuni studi che hanno seguito i cambiamenti nella rappresentazione motoria dopo un'amputazione, hanno già provveduto a tale riguardo (Pascual-Leone e coll., 1996c).

### *1.3.3 Applicazioni cliniche*

In una sessione TMS ideale, innanzitutto, occorre un ambiente ben illuminato e relativamente impenetrabile al suono, poiché qualsiasi rumore improvviso può modificare i parametri soglia. Si deve spiegare al soggetto sperimentale gli scopi dell'esperimento e i metodi, prendere nota della sua età, altezza, terapia corrente e delle informazioni cliniche rilevanti. L'esaminatore dovrebbe definire i valori normativi circa i parametri soglia e suddividerli per età e altezza. E' necessario chiedere al soggetto sperimentale di tenere gli occhi aperti, mantenere una posizione supina (che facilita il rilassamento muscolare), o seduta ed è essenziale monitorare il suo stato di veglia. Si applicano gli elettrodi nei siti appropriati, controllando che vi siano delle impedenze elettrodo-pelle ottimali. Infatti, per diminuire il livello delle

impedenze, occorre pulire la pelle con alcol, o effettuare un breve massaggio nell'area di contatto con l'elettrodo per una miglior penetrazione del gel conduttivo.

A questo punto si può iniziare a stimolare: si posiziona il *coil* sul sito appropriato a contatto con lo scalpo. La direzione del flusso di corrente più appropriata per stimolare l'area motoria è quella che va dalla parte posteriore a quella anteriore (o direzione *inion-nasion*), e la direzione della corrente indotta è opposta a quella della corrente circolante nel *coil*. Utilizzando il *coil* a forma di otto, la sua ala di destra viene posizionata sull'area motoria facendo un angolo di 45° con Cz e con l'ala del *coil* orientata posteriormente. La ricerca dell'*hot spot* (cioè, la posizione dello scalpo in cui gli stimoli sono capaci di produrre dei MEP di più grande ampiezza e minima latenza) è secondaria all'uso di una intensità soprasoglia della stimolazione e, successivamente, occorre diminuire l'intensità degli stimoli in passi progressivi. Si definisce la soglia di eccitabilità durante rilassamento e contrazione, raccogliendo e sovrapponendo 2-3 MEP in entrambe le situazioni. Si compiono delle contrazioni prolungate, ripetendole per 2-3 volte, per ottenere le misure del periodo silente (SP).

Durante la stimolazione sopramassimale dei nervi periferici si raccolgono le onde M di massima ampiezza e si calcola il rapporto delle ampiezze M/MEP. Durante la stimolazione delle radici spinali si raccolgono e si sovrappongono 2-3 MEP, mentre durante la stimolazione nervosa sopramassimale si raccolgono le onde F. La sessione TMS viene ripetuta sull'altro lato, annotando le differenze dei parametri misurati e, se richiesto, anche in altre parti del corpo. Se necessario, la TMS può essere ripetuta in diverse sessioni di registrazione a seconda degli scopi della ricerca. In casi molto

rari questa tecnica può indurre degli attacchi, ma solo quando un sottostante disturbo, come l'epilessia o l'ictus, predispongono agli attacchi stessi (Rossini e coll., 1999).

La TMS ha permesso una valutazione raffinata e non invasiva dei meccanismi inibitori ed eccitatori corticali, ha aperto una nuova “finestra” nella corteccia motoria consentendo a molti studiosi di investigare i disturbi neurologici associati o causati da anomalie dell'eccitabilità della corteccia motoria.

Nell'ambito dell'ictus, l'emiparesi è associata ad una soglia motoria più alta, ad una diminuzione dell'ampiezza dei MEP e ad un aumento del SP. La rilevanza di tutti questi cambiamenti negli stadi acuti della malattia, ha un valore prognostico circa l'esito di essa (Dominkus e coll., 1991; Nagao e Kawai, 1992; Cruz-Martinez e coll., 1998; Escudero e coll., 1998). Nei pazienti gravemente affetti da ictus, i MEP sono spesso assenti, mentre quelli meno affetti mostrano una più lunga latenza ed un'ampiezza minore. Heald e collaboratori (1993a,b) affermarono come la presenza dei MEP negli stadi precoci della malattia siano correlati ad una buona ripresa. Il recupero della latenza dei MEP è altamente correlato al ritorno della forza muscolare e alla funzione legata alla mano. Le anomalie riguardo il tempo di conduzione centrale (CCT) sono presenti in più del 50% dei casi di ischemia cerebrale minore di tipo lacunoso. Mentre i CCT prolungati sono correlati al livello di debolezza, l'aumento della soglia correla con la presenza di riflessi tendinei veloci. Il meccanismo sottostante ai CCT prolungati sembra essere multifattoriale: la perdita di neuroni corticospinali a propagazione veloce, il rallentamento al punto lesionato, la connessione corteccia-motoneurone che non parte dall'area motoria primaria, la

perdita del feedback sensitivo alla mano e il coinvolgimento di nuove connessioni cortico-corticali. Il coinvolgimento clinico del sistema piramidale non si riflette inevitabilmente nella soglia motoria o nei MEP (Homberg e coll., 1991; Muller e coll., 1992) e risposte con latenza normale (paragonate alla parte sana) sono state dimostrate in seguito alla degenerazione del tratto piramidale dovuta ad ictus (Fries e coll., 1991). La misura più sensibile del funzionamento anomalo in soggetti che hanno subito un ictus è il SP, che presenta spesso valori anormali anche in seguito al completo recupero della funzione motoria (Braune e Fritz, 1996; Ahonen e coll., 1998). Queste osservazioni mettono in rilievo il ruolo dei meccanismi intracorticali e le aree motorie associative nella genesi dei disturbi motori. La forte contrazione del muscolo nella paresi al braccio riduce la durata del SP: ciò rappresenta un cattivo segno prognostico quando accade durante lo stadio acuto del disturbo, poiché risulta associato ad un mediocre recupero funzionale e alla comparsa di spasticità.

Periodiche TMS compiute per più di 2 anni dopo l'ictus hanno mostrato un decremento della durata del SP parallelamente al miglioramento clinico (Rossini e coll., 1999).

Classen e collaboratori (1997) osservarono che i pazienti con ictus emiparetico acuto, un SP marcatamente prolungato ma MEP normali, presentavano un secondo periodo distinto di inabilità ad iniziare i movimenti dopo una singola stimolazione di TMS, a cui diedero il nome di “arresto motorio”. In pazienti con SP prolungato erano inoltre presenti delle manifestazioni acute o chiare di *neglect* motorio. Gli autori proposero come causa di tale insufficiente funzione motoria un eccesso di input



inibitori nel tratto corticospinale piuttosto che un danno ai motoneuroni superiori (Classen e coll., 1997). I correlati clinici del *neglect* e il fenomeno dell'arresto motorio suggeriscono che il SP sia influenzato dalle aree premotorie. Le lesioni al cervelletto aumentavano la soglia motoria e la latenza evocata dall'emisfero non lesionato, ciò sembra essere legato all'ipotesi di un'influenza facilitatoria tonica del cervelletto sulla corteccia (Di Lazzaro e coll., 1994; Cruz-Martinez e Arpa, 1997).

Per quanto riguarda la sclerosi multipla (MS), il parametro che più esce dalla norma è il CCT che è molto prolungato (Berardelli e coll., 1988; Britton e coll., 1991) e può essere bilaterale o unilaterale, con lesioni demielinizzanti del tratto corticospinale. Questa patologia prolunga la latenza e aumenta gli intervalli tra picchi (Boniface e coll., 1991; Nielsen, 1997) e, inoltre, incrementa la durata dei MEP (Kukowski, 1993). Infatti, i MEP, quando vengono misurati in prove consecutive, mutano considerevolmente nella loro latenza, ampiezza e forma. Se nei controlli la latenza iniziale fluttua tra 0.27 e 0.86 ms, nei pazienti affetti da sclerosi multipla, durante 10-50 prove consecutive, cambia e raggiunge i 0.5-5.9 ms. Un possibile svantaggio di questa tecnica è rappresentato dal fatto che la latenza iniziale dei MEP-contratti è a volte difficilmente discernibile dallo sfondo dell'EMG. L'aumento della variabilità della latenza iniziale è correlata significativamente al deterioramento dei movimenti fini delle dita e alle scosse patologiche delle dita, mentre i sintomi posteriori sono correlati ad un prolungamento anomalo del CCT.

Inoltre, nei pazienti con sclerosi multipla è frequente un aumento della soglia di eccitabilità per produrre MEP-rilassati. L'aumento, anche se moderato, della soglia

motoria potrebbe risultare sorprendente visto che i motoneuroni spinali sono conosciuti come ipereccitabili nei pazienti spastici, ma, indubbiamente, ciò riflette una perdita di eccitabilità delle vie motorie centrali. E' stata osservata una correlazione positiva tra il prolungamento del CCT e il valore soglia e una correlazione negativa tra l'ampiezza dei MEP e le soglie motorie.

Nel caso della sclerosi laterale amiotrofica (ALS), è stato osservato l'aumento della soglia motoria e il prolungamento del SP (Caramia e coll., 1991). Naturalmente, i riscontri cambiano in base allo stadio del disturbo e al fatto che siano inclusi i neuroni motori superiori o quelli inferiori (Eisen e coll., 1993; Prout e Eisen, 1994). Mediante la TMS è stato possibile osservare in tali pazienti come le anomalie dei parametri fossero correlati alla disfunzione del tratto corticospinale (Triggs e coll., 1999).

La perdita delle cellule corticospinali nella tipica malattia del neurone motorio (*motor neurone disease*, MND), fa sì che il rapporto delle ampiezze M/MEP sia normale se non c'è iperreflessia, mentre tale rapporto risulta ridotto in caso di riflessi tendinei veloci. Nell'ambito delle MND i SP risultano brevi, ma nel caso ci sia anche demenza, tali indici risultano più lunghi.

I pazienti con sclerosi laterale primaria (PLS) mostrano un significativo aumento dell'eccitabilità della soglia e il CCT è più lungo sia per gli arti superiori che inferiori. Al contrario, la soglia per produrre i MEP-rilassati è spesso più bassa del normale nei soggetti con ALS, specialmente nei muscoli con un volume muscolare

relativamente preservato e abbondanti di spasmi. In questi casi, i MEP con soglie più basse del normale sono a volte indistinguibili nella forma dagli spasmi spontanei.

Mentre, gli arti spastici con un'atrofia muscolare avanzata, spesso mostrano soglie più alte del normale nei MEP-rilassati. La durata più breve del SP nei pazienti col tratto corticospinale coinvolto, riflette un effetto centrale inibitorio o un'ipereccitabilità dei motoneuroni spinali.

Nell'ambito della paralisi cerebrale emiplegica, la soglia motoria è spesso elevata e l'ampiezza dei MEP decresce. Inoltre, ci sono frequentemente delle risposte evocate motorie dall'emisfero indenne alla mano paretica ipsilaterale per riorganizzazione motoria centrale. La presenza di tali risposte bilaterali, come pure la presenza di movimenti riflessi, sono associati ad un miglior funzionamento della mano (Carr e coll., 1993).

La TMS nell'ambito della malattia del midollo spinale, ha consentito di rilevare un prolungamento del CCT in un ampio spettro di disturbi, come per esempio nel caso di mielopatia cervicale spondilitica, tumori spinali, siringomielia, atassia spinocerebellare e paraparesi spastica ereditaria. Comunque, l'analisi di altri parametri di risposta alla TMS possono essere d'aiuto nella distinzione delle precedenti entità. I soggetti con mielopatia cervicale spondilitica hanno spesso un normale CCT alla parte cervicale prossimale, mentre è prolungato nei segmenti cervicali inferiori. Nella maggior parte dei casi, il CCT alle radici lombari, è lo stesso prolungato, ma a causa dell'ampia variabilità dei valori normali, questo parametro è meno sicuro del CCT nei segmenti cervicali inferiori. Nella cervicale spondilitica, le

risposte alla TMS sono di solito polifasiche e desincronizzate. Per una migliore localizzazione di un parziale o totale blocco della propagazione dell'impulso, si consigliano delle registrazioni simultanee da muscoli multipli con diverse innervazioni mielomeriche. Nei pazienti con lesioni traumatiche al midollo spinale, i MEP-rilassati potrebbero essere assenti; tuttavia, la stimolazione combinata di afferenze periferiche e delle fibre corticospinali lese, spesso permette di provocare dei MEP.

Tra le applicazioni cliniche della TMS, troviamo anche la stimolazione dei pazienti affetti dal disturbo di Parkinson, dalla corea di Huntington, dalla distonia primaria, dal tremore essenziale (*essential tremor*) e dalle mioclonie. Le anomalie sono state trovate utilizzando il protocollo di “doppio stimolo” nelle misure dell'eccitabilità intracorticale e nel SP. Nel disturbo di Parkinson, il SP è più breve, dovuto ad una ridotta inibizione intracorticale (Huag e coll., 1992; Priori e coll., 1994; Hallett, 1995; Berardelli e coll., 1996) e tende a prolungarsi dopo la terapia dopaminergica e anticolinergica (Huag e coll., 1992; Priori e coll., 1994). Nel disturbo di Parkinson, l'inibizione cortico-corticale testata a brevi intervalli (1-5 ms) tra stimolo condizionante e stimolo test, è ridotta quando il muscolo è a riposo (Ridding e coll., 1995a); nel caso in cui l'ISI sia più lungo (75-250 ms), con stimolo condizionante sia soprasoglia e sia in contrazione, l'inibizione intracorticale aumenta (Berardelli e coll., 1996). Da studi condotti per valutare l'effetto della TMS sull'esecuzione di movimenti rapidi nel disturbo di Parkinson è emerso che, un singolo impulso magnetico inviato sulla corteccia motoria prima di un movimento,

migliora il tempo di reazione e l'EMG relativo al movimento stesso. Questa osservazione è compatibile con l'aumento dell'inibizione della risposta test rilevata con gli impulsi accoppiati a intervalli di tempo interstimolo lunghi (Berardelli e coll., 1996). Per quanto riguarda le anomalie circa la soglia dei MEP, i vari studi hanno riportato risultati disomogenei: alcuni autori hanno trovato una diminuzione di essa (Cantello e coll., 1991), altri un aumento (Rossini e coll., 1991) e alcuni non hanno rilevato cambiamenti tra questi pazienti e i soggetti di controllo (Priori e coll., 1994; Ridding e coll., 1995a). In pazienti con morbo di Parkinson che hanno potenziali evocati somatosensoriali frontali ridotti diviene impossibile il condizionamento della soglia di eccitabilità cerebrale attraverso la prestimolazione delle fibre nervose periferiche (Rossini e coll., 1991).

Gli studi che si sono occupati della distonia hanno riscontrato una leggera diminuzione della durata del SP (Rona e coll., 1997). E' stata riportata anche la riduzione dell'inibizione intracorticale (Ridding e coll., 1995a). Al contrario, Rona e coll. (1997), sfruttando la tecnica della doppia stimolazione durante contrazione e con intervalli condizionante-test più lunghi, hanno riscontrato un aumento dell'inibizione dei MEP.

Nel caso della malattia di Huntington, in alcuni pazienti, gli studi hanno riportato un SP prolungato. Per quanto riguarda gli studi sull'inibizione intracorticale realizzata a riposo, durante contrazione ed a brevi e lunghi ISI, non mostrano modificazioni circa tale inibizione. Rossini e coll. (1991) non hanno rilevato delle

anormalità nella soglia per evocare i MEP, così come nei pazienti affetti da distonia e da tremore essenziale.

Nei pazienti con tremore essenziale, utilizzando la tecnica del “doppio stimolo” e ISI brevi e lunghi, sono stati rilevati MEP e SP simili ai soggetti normali (Romeo e coll., 1998). Questo suggerisce che i pazienti con questo tipo di disturbo possiedono una normale eccitabilità della corteccia motoria.

La TMS nei pazienti con mioclonie, è stata utilizzata per studiare l'eccitabilità della corteccia motoria e il punto in cui originano gli spasmi mioclonici. Sono stati rilevati un SP breve e anormalità dell'inibizione cortico-corticali e transcallosali.

Gli studi nell'ambito dell'epilessia, precisamente in pazienti non trattati medicalmente e con epilessia generalizzata idiopatica, sono contrastanti nei confronti della soglia motoria e del SP (Reutens e coll., 1993; Gianelli e coll., 1994). Per quanto riguarda la soglia motoria, i dati variano rispetto alle caratteristiche dei pazienti come età e frequenza degli attacchi. In uno studio su 53 pazienti affetti principalmente da epilessia al lobo temporale e sotto cure farmacologiche si è notato che, l'alta frequenza di scariche epilettiformi e d'attacchi, era associata ad un decremento del CCT e della soglia motoria (Hufnagel e coll., 1990). Questo risultato suggerisce che le misure dell'eccitabilità della TMS possono riflettere una suscettibilità all'epilettogenesi. Non è del tutto chiaro se l'epilessia stessa modifichi la soglia motoria o se le tante alterazioni riportate nella letteratura siano causate dalla medicazione concomitante (Cracco e Rossini, 1998). Tuttavia, alcuni studi hanno osservato un aumento della soglia motoria nei pazienti epilettici trattati con

anticonvulsivanti, particolarmente il valproato (Koh e Eyre, 1988; Hufnagel e coll., 1990; Gianelli e coll., 1994; Caramia e coll., 1996; Nezu e coll., 1997). Infatti, i farmaci anticonvulsivanti con proprietà bloccanti il canale del sodio e del calcio (carbamazepina, lamotrigina, valproato), aumentano la soglia motoria, mentre quelli con attività GABAergica (vigabatrin, baclofen) non hanno effetto sulla soglia motoria (Ziemann e coll., 1996). In apparente contraddizione ai risultati di un'associazione tra la frequenza degli attacchi e la riduzione della soglia motoria, Brown e coll. (1996) trovarono che la generalizzazione di mioclonie corticali era associata ad un aumento della soglia motoria. Questo studio confrontava pazienti con mioclonie puramente focali o multifocali, che gli autori chiamarono “non diffusivi” (“*non-spreaders*”), e pazienti con mioclonie generalizzate, chiamati “diffusivi” (“*spreaders*”). Senza prendere in considerazione lo stato di medicazione, dalle misurazioni con un protocollo di “doppio stimolo” risultò che l'incremento della soglia motoria e il decremento dell'inibizione erano maggiori nei “diffusivi”, anche se nei “non diffusivi” tali valori erano ancora anormali se comparati ai soggetti di controllo.

Nei pazienti epilettici, anche la misura di MEP risulta alterata. Infatti, quando la TMS venne impiegata durante complessi di punte e onda lenti dell'EEG, si osservò una riduzione dei MEP. Il SP nell'epilessia è bilateralmente prolungato. In generale, l'inibizione intracorticale (cortico-corticale) è ridotta in tutti gli studi sui disturbi neurologici ed è stato confermato per i pazienti con epilessia mioclonica giovanile, mioclonie corticali, epilessia del lobo temporale, epilessia parziale continua ed epilessia focale. Nell'ultimo studio, la ridotta inibizione intracorticale è stata

osservata limitatamente alla corteccia motoria ipsilaterale al focolaio epilettico. La facilitazione intracorticale è risultata normale in pazienti con mioclonie e maggiore in pazienti con epilessia focale ipsilaterale al focolaio epilettico. L'inibizione transcallosale è normale nel sottogruppo con mioclonie corticali focali, mentre è abolita nel sottogruppo con mioclonie generalizzate. Tuttavia, le misure della TMS non sono state utili alla categorizzazione dei diversi tipi d'epilessia (Caramia e coll., 1996) ma, si è osservata una ridotta attività epilettica con stimolazioni a bassa frequenza.

Un'ulteriore e nuova applicazione della TMS, è nel campo della neurofisiologia clinica mediante la stimolazione delle radici cerebrali e spinali. Questo metodo è sicuro, adatto clinicamente ed estremamente utile nel determinare le caratteristiche di propagazione ed eccitabilità del tratto motorio centrale e lungo la porzione prossimale dei nervi e delle radici spinali (Rossini e coll., 1999).

La TMS è stata anche utile durante operazioni neurochirurgiche: registrando le vie discendenti evocate dalla stimolazione sull'area della corteccia motoria, è possibile monitorare l'integrità delle vie corticospinali, oppure, si possono registrare i potenziali motori dai muscoli dopo la TMS (anche se in quest'ultimo caso ci sono dei problemi riguardo all'effetto degli agenti anestetici sui MEP).

Infine, le anomalie nelle misure della TMS sono state utilizzate anche in altre malattie diffuse, come la mancanza della vitamina B12, emicrania classica unilaterale, sindrome di Wilson. Nei pazienti affetti dalla prima patologia, è stato rilevato un prolungamento del CCT motorio risultato reversibile con il trattamento



(Wu e Chu, 1996). I pazienti con emicrania classica unilaterale hanno un aumento della soglia motoria nell'emisfero affetto (Maertens de Noordhout e coll., 1992) e i pazienti con il disturbo acinetico rigido della sindrome di Wilson, associato a lesioni della sostanza bianca, non presentano MEP (Chu, 1990). Tra le malattie psichiatriche, Puri e coll. (1996) hanno osservato pazienti schizofrenici non trattati con farmaci, rilevando una diminuzione della latenza dei MEP.

## 1.4 La stimolazione magnetica transcranica ripetitiva

La stimolazione magnetica transcranica ripetitiva (*repetitive transcranial magnetic stimulation*, rTMS), è una tecnica di stimolazione ripetuta su un singolo punto dello scalpo (Wassermann, 1998). Generalmente, quando si usa il termine rTMS, ci si riferisce a quella di "alta frequenza", infatti, quando gli stimoli vengono somministrati ad una frequenza superiore ad 1 Hz si parla di "rTMS veloce" o di "rTMS alta frequenza" e, al contrario, quando gli stimoli sono di 1 Hz e inferiore ad esso, si parla di "rTMS lenta" o di "rTMS bassa frequenza". Questi diversi tipi di rTMS hanno effetti fisiologici dissimili e, in base alla frequenza, c'è anche un differente grado di rischio. Infatti, le frequenze di 1 Hz o meno di esso, possono essere considerate come "TMS a singolo impulso" (*single-pulse TMS*), sebbene quest'ultimo termine venga usato per riferirsi alla stimolazione aritmica con stimolatori magnetici convenzionali che erogano degli impulsi dopo pochi secondi l'uno dall'altro.

La rTMS viene impiegata solamente con speciali stimolatori che hanno le caratteristiche adatte ad erogare impulsi a grande velocità. Quindi, la stimolazione ad alta frequenza è possibile con un singolo stimolatore caratterizzato da circuiti speciali e da multipli apparecchi elevatori di potenza, oppure, con stimolatori multipli che insieme scaricano attraverso un singolo *coil* e vengono attivati in sequenza da un microprocessore.

I parametri della stimolazione sono:

- l'intensità d'ogni stimolo;
- la frequenza della stimolazione;
- la durata della serie o il numero degli stimoli;
- l'intervallo tra serie successive;
- il numero totale delle serie effettuate;
- il periodo totale di stimolazione;
- il numero totale d'impulsi erogati.

Sebbene si parli della TMS come un metodo non invasivo, che non include un'interazione diretta col tessuto cerebrale, la rTMS deve essere considerata una tecnica invasiva e potenzialmente pericolosa in quanto interferisce con l'attività elettrica cerebrale e con i potenziali sinaptici (Fitzpatrick e Rothman, 2000). I rischi della rTMS più conosciuti sono: induzione d'attacchi epilettici, emicranie e indebolimento della memoria che può durare da qualche ora a qualche giorno.

Proprio per tale fatto, Fitzpatrick e Rothman (2000), raccomandano i ricercatori a monitorare attentamente i loro esperimenti quando usano la rTMS con popolazioni di soggetti che hanno un danno cerebrale (ictus, epilessia), il quale aumenterebbe il rischio d'attacchi, oppure con soggetti che possiedono già delle capacità cognitive ridotte, così come una ridotta riorganizzazione strutturale. Infatti, alcuni soggetti non sono sempre consapevoli dei farmaci che prendono e alcuni di essi possono alterare le soglie di depolarizzazione, come gli antidepressivi, gli antiepilettici e alcuni soggetti, per esempio, possono anche trascurare di menzionare una storia d'attacchi infantili.

Gazzaniga (in Fitzpatrick e Rothman “*Journal of Cognitive Neuroscience*”, 2000) sostenne che si dovrebbe valutare tutti gli eventuali rischi, usando la rTMS su soggetti normali e di buona salute, particolarmente alla luce dei possibili effetti a lungo termine.

#### *1.4.1 Applicazioni neurofisiologiche*

La stimolazione magnetica transcranica ripetitiva (rTMS), è stata impiegata dalle neuroscienze cognitive specialmente per gli studi dell'apprendimento e della memoria. La logica sperimentale prevalentemente usata in questi studi è l'interferenza della rTMS sui processi cognitivi sperimentalmente controllati, interrompendo selettivamente i processi d'apprendimento e di memoria in corso e creando quindi una “lesione reversibile”. Paus e coll. (1997) hanno mostrato che dalla combinazione della rTMS e PET è possibile osservare sia gli effetti locali della rTMS che quelli più distanti dal punto di stimolazione. Gli effetti locali possono rappresentare una rottura o un intensificarsi dell'attività corticale sottostante al punto della stimolazione, mentre gli effetti distanti rappresentano una trasmissione dell'attività neurale ad altri siti del cervello connessi con quello della stimolazione.

In uno studio recente (Flitman e coll., 1998), i soggetti che sono stati testati approssimativamente un'ora dopo la rTMS nelle regioni parietali e frontali di entrambi gli emisferi, mostravano un declino significativo nel ricordo di una storia, confrontato con la loro *baseline* pre-rTMS. L'intensità e la durata della rTMS usate in questo studio, erano insolitamente alte ed è questo che provocò l'effetto sfavorevole.

In un altro studio Greenberg e coll. (1997) sono riusciti a concludere che gli effetti della rTMS sulla memoria e sulla cognizione durano almeno un'ora dopo la rTMS. Quest'ultimo studio ha confermato l'ipotesi di Pascual-Leone e coll. (1994a), sul fatto che, nella rTMS, gli effetti d'ogni stimolo possono essere cumulativi o persino estendersi oltre il periodo della stimolazione stessa.

Hufnagel e coll. (1993) hanno valutato in 11 volontari di buona salute l'effetto della rTMS sulla memoria immediata verbale e visuo-spaziale. Mentre venivano mostrati una serie di numeri o la posizione di cubi da memorizzare (test di Corsi) venivano anche erogati impulsi a 50 Hz e d'intensità di circa 1.0 tesla, della durata di 550 ms sui punti anterolaterali destra e sinistra delle regioni parietali e temporali superiori e posteriori. Il confronto statistico dei compiti di memorizzazione durante rTMS e la prova alla *baseline* senza stimolazione, non evidenziava dei cambiamenti significativi.

Pascual-Leone e Hallett (1994) hanno usato la rTMS, su 10 volontari normali, per studiare il contributo funzionale della corteccia frontale dorsolaterale in compiti in cui viene valutato il ritardo nelle risposte. I soggetti, seduti di fronte ad un pannello di risposta, dovevano spingere dei bottoni qualora veniva mostrato, su uno schermo di

computer, un quadrato verde tra altri tre non colorati. Successivamente, in un periodo di dilazione di 5 s, il colore appariva casualmente in ognuno dei quattro quadrati e i soggetti dovevano spingere il bottone quando vedevano il quadrato rosso. La rTMS è stata impiegata durante il periodo di dilazione tra l'istruzione e l'esecuzione del compito e ciò, ha provocato un alto e significativo numero di risposte errate.

Nel campo delle neuroscienze cognitive, la rTMS è stata usata anche per testare la memoria a lungo termine o memoria episodica. Grafman e coll. (1994) hanno studiato 5 soggetti normali destrimani, i quali dovevano ricordare le parole tra dodici di una lista. La rTMS è stata applicata dopo la presentazione di ciascuna parola impiegando un *coil* a forma d'otto che eroga treni d'impulsi della durata di 500 ms in determinati punti corrispondenti a definite posizioni degli elettrodi EEG secondo il Sistema 10-20. Il ricordo era significativamente diminuito solo quando la rTMS era stata applicata su T5 (medio-temporale sinistro) o F7/F8 (dorsofrontale sinistro e destro).

Pascual-Leone e coll. (1996b) esaminarono il ruolo della corteccia prefrontale dorsolaterale nell'apprendimento procedurale con una nuova sequenza motoria. I soggetti, normali, completavano diversi blocchi in un compito seriale di reazione a tempo, usando una sola mano. Nel tentativo di interrompere l'apprendimento visuo-motorio, la rTMS veniva applicata a bassa intensità sopra l'area motoria secondaria o al di sopra la corteccia prefrontale dorsolaterale, controlaterale o ipsilaterale alla mano usata nell'esperimento. La stimolazione della corteccia prefrontale dorsolaterale controlaterale danneggiava l'apprendimento della sequenza visuo-

motoria, ma questo non succedeva se venivano stimolati altri punti. Questo studio ha supportato l'ipotesi che la corteccia prefrontale dorsolaterale e controlaterale, giocano un ruolo particolarmente importante nella codifica di nuove sequenze visuo-motorie (Doyon e coll., 1996; Pascual-Leone e coll., 1995).

Gerloff e coll. (1997) erano interessati ad esaminare anche il ruolo dell'area motoria primaria e secondaria nell'organizzazione di movimenti sequenziali delle dita in diversi compiti complessi. La rTMS veniva usata ad alta frequenza (15-20 Hz) in tali regioni dopo sequenze semplici e complesse. La stimolazione dell'area motoria secondaria induceva degli errori solo nelle sequenze complesse, mentre la stimolazione dell'area motoria primaria, causava degli errori nelle *performance* sia nelle sequenze semplici sia in quelle complesse. Questo risultato è coerente con quanto evidenziato su primati non umani (Tanji e coll., 1994) nei quali l'area motoria secondaria riveste un ruolo rilevante nell'organizzazione di movimenti in sequenze motorie complesse, che vengono recuperate dalla memoria e inserite in un preciso piano.

In studi recenti su animali in cui è stata impiegata la TMS, i vari autori hanno tentato di identificare gli effetti diretti neuronali della rTMS sull'apprendimento e sulla memoria. Wang e coll. (1996) hanno usato, su alcuni roditori, un sistema capace di registrare la localizzazione precisa di *spike* nella corteccia uditiva, evocati dalla rTMS. Gli impulsi della rTMS a bassa intensità (1-10 Hz) producevano, comunque, un aumento della frequenza di *spike* con un potenziamento sinaptico a lungo termine (LTP) e soprattutto una maggior durata della depressione sinaptica a lungo termine

(LTD). Questo studio suggerisce che gli effetti della rTMS sull'apprendimento e sulla memoria umani, hanno come fondamento i processi neuronali essenziali. Inoltre, Kling e coll. (1990), da esami istologici su ratti, rilevarono come la rTMS durante determinate prestazioni, poteva causare solamente una moderata disorganizzazione della memoria retrograda, ma non evidenziarono evidenti cambiamenti strutturali tali da indurre deficit di memoria.

Le applicazioni della rTMS relative alla produzione di un arresto del discorso mediante stimolazione dell'area motoria del linguaggio, hanno mostrato come la rTMS può produrre un'interruzione prolungata e selettiva dell'attività neuronale permettendo il *mapping* non invasivo dei processi cognitivi e percettivi della corteccia umana. (Hallett e coll., 1999). Durante la stimolazione dell'emisfero sinistro ci possono essere deficit temporanei nel richiamo di stimoli verbali, e la stimolazione del lobo temporale dominante del linguaggio può interrompere l'abilità del soggetto di nominare gli oggetti presentati visivamente (Hallett e coll., 1999).

Con la stimolazione dei lobi temporale e frontale sono stati trovati effetti selettivi nella codifica mnemonica di parole e disegni (Hallett e coll., 1999).

Le neuroscienze cognitive quindi, sono arrivate alla conclusione che la rTMS ha un effetto modesto, negativo ma reversibile su tutte le componenti, relative alla memoria, che dipendono dal punto della stimolazione, dalla sua tempestività e intensità. Gli effetti del sito di stimolazione sono compatibili con quello che è conosciuto come localizzazione dei processi della memoria nel cervello. Gli effetti della tempestività sono stati poco studiati, ma Grafman e coll. (1994) hanno



dimostrato che gli effetti della rTMS al lobo temporale si esplicavano nella riduzione della memoria a lungo termine quando la stimolazione avveniva con 0 ms di latenza, mentre gli effetti della stimolazione al lobo frontale apparivano a lunghe latenze.

Queste conclusioni indicarono che il lobo temporale e frontale contribuiscono in maniera differente all'apprendimento e alla memoria.

Per quanto riguarda gli effetti facilitatori della rTMS sull'apprendimento e sulla memoria, fino ad ora non ci sono stati degli studi che possono confermarlo, tuttavia, la rTMS, appropriatamente testata, potrebbe offrire degli effetti benefici su tali funzioni nell'ambito d'alcuni disturbi neurologici.

Rimanendo nell'ambito degli studi che si sono serviti della rTMS per riprodurre le basi di un deficit (*virtual lesion*), si può citare Fierro e coll. (2000), i quali hanno applicato la rTMS con una intensità di 25 Hz e una durata di 400 ms sulla corteccia parietale destra allo scopo di indurre una temporanea sindrome di *neglect*. Tenendo conto che i soggetti con danno alla corteccia parietale destra ed *emineglect* sinistro, ad un compito di bisezione di linee, tipicamente sottostimano la lunghezza del lato sinistro della linea, i soggetti normali, senza TMS, al contrario, mostravano una tendenza a sovrastimare la lunghezza del lato sinistro della linea (questo fenomeno è noto come "*pseudoneglect*"). La TMS sul lato destro riduceva lo *pseudoneglect*, facendo in modo che i soggetti sottostimassero la lunghezza del lato sinistro della linea rispetto al loro normale giudizio. In questo modo è stato ricreato temporaneamente, ma in maniera riproducibile, il fenomeno del *neglect*. In questo senso la rTMS dà la possibilità di verificare alcune delle teorie della neuropsicologia

classica. Il lavoro di Fierro e coll. (2000), oltre ad evidenziare un fenomeno importante e ampiamente studiato, sottolinea la differenza tra deficit indotti da TMS e deficit osservati nei pazienti.

Altri studi recenti hanno mostrato che gli effetti della TMS corrispondono all'attivazione prodotta dal comportamento auto-indotto. Per esempio, Seibner e coll. (1998) hanno applicato impulsi TMS ripetitivi (rTMS) a 2 Hz alla corteccia sensomotoria sinistra dei soggetti ad una intensità del 140% della soglia motoria. I soggetti sono stati, in seguito, invitati ad imitare il movimento del braccio determinato da rTMS. Sono stati messi a confronto i cambiamenti nel flusso sanguigno cerebrale regionale nelle due condizioni (movimento indotto da TMS e movimento volontario). In entrambi i casi, il flusso sanguigno nella corteccia motoria controlaterale era aumentato, tuttavia, il movimento volontario produceva una maggiore attività nell'area motoria supplementare. Sia il movimento volontario che quello indotto eccitavano le stesse aree corticali connesse.

Nell'ambito delle applicazioni neurofisiologiche, la rTMS è stata impiegata anche in corteccia motoria primaria (M1) da Pascual-Leone e coll. (1994a) per dimostrare come gli effetti d'ogni stimolo non solo possono non essere gli stessi, ma possono essere cumulativi o persino estendersi oltre il periodo di stimolazione.

Infatti, tali autori hanno osservato che la stimolazione della corteccia motoria primaria (M1) può determinare un aumento dell'ampiezza dei MEP ad ogni stimolo o raggiungere un livello di *plateau* o alternare livelli alti e bassi. Con l'aumento della frequenza e dell'intensità degli stimoli i MEP tendono ad estendersi ai muscoli

adiacenti a quello bersaglio in modo somatotopico. Nei muscoli adiacenti la latenza aumenta, portando all'attivazione di aree sempre più distanti da M1, attraverso conduzione intracorticale. Questo fenomeno viene interpretato come prova che la rTMS può superare l'inibizione laterale nella corteccia motoria primaria, creando una condizione necessaria per l'epilettogenesi. Infatti, la stimolazione magnetica ripetitiva, ad alta intensità e frequenza, può evocare risposte motorie anche dopo la fine della stimolazione. Oltre a produrre differenti pattern di MEP a differenti gradi di intensità e frequenze di stimolazione, la rTMS può produrre effetti a lunga durata, o "condizionanti", sull'eccitabilità di M1, che si riflettono nell'ampiezza e nella soglia MEP. Per esempio, la stimolazione di M1 ad un'intensità soprasoglia e ad una frequenza di 1 Hz produce l'inibizione dei MEP entro pochi secondi per un periodo di diversi minuti (Chen e coll., 1997a). Mentre con l'applicazione della rTMS a frequenze più elevate, 5 Hz o più, ci può essere un aumento persistente nell'eccitabilità che può durare per più di diversi minuti (Pascual-Leone e coll., 1994a).

L'osservazione della persistenza dell'attività EMG e dell'estensione dell'eccitazione sono state usate per definire dei parametri di sicurezza massima, creando una tabella attraverso la combinazione di frequenza, durata e intensità di stimolazione, per un treno singolo di rTMS (Pascual-Leone e coll., 1993; Chen e coll., 1998a; Wassermann, 1998). La frequenza degli impulsi è stata misurata in Hz, la durata in secondi e l'intensità in termini della soglia motoria, definita come la minima intensità richiesta per produrre MEP di almeno 50 $\mu$ V picco a picco di

ampiezza, in 5 su 10 stimoli consecutivi. Per determinare la durata massima di sicurezza di ogni singolo impulso della rTMS, Wassermann e coll. (1998) hanno considerato due variabili, la diffusione dell'eccitazione ai muscoli adiacenti e la persistenza di attività elettromiografica. Alle durate maggiori non ci sono state scariche EMG o diffusione dell'eccitazione. La tabella fornisce delle linee guida per evitare danni nell'uso della rTMS e a questo scopo un'altra importante variabile considerata è stata il numero totale di impulsi TMS rilasciati in un tempo stabilito (ad esempio, all'ora). Anche se i parametri scelti hanno un'ovvia rilevanza per la stimolazione di M1, non è possibile sapere se queste misure siano sufficientemente accurate per predire una sensibilità individuale dei soggetti ad effetti non motori o all'epilettogenesi al di là della corteccia motoria primaria. Dal momento che M1 è considerata l'area più epilettogena della neocorteccia, queste linee guida possono rappresentare i limiti "dell'area di sicurezza" per gli studi con obiettivi clinici, per esempio il trattamento di gravi depressioni.

Mediante la combinazione di determinati parametri quali, intensità 120% della soglia motoria, frequenza 1.5 Hz e durata 2.5 secondi, si induceva un attacco (*seizure*). Per tale motivo, Wassermann e collaboratori (1998) consigliano di ridurre la durata dei treni di impulsi al 25%, allo scopo di aumentare il margine di sicurezza.

Non sono state formulate, al contrario, delle linee guida per treni di impulsi ad intensità inferiori alle soglie MEP o con frequenza minore di 1 Hz e, sebbene treni di impulsi sottosoglia e stimolazioni a più di 1 Hz siano stati largamente usati senza incidenti, è richiesta una certa cautela.

Quando sono utilizzate serie ripetute di rTMS, gli intervalli inter-serie costituiscono un'ulteriore parametro di stimolazione. Un unico lavoro (Chen e coll., 1998a) è stato progettato per valutare questo fattore e si è imposta la necessità di sospendere la stimolazione in un soggetto a causa di un attacco. Nonostante questo limite, lo studio ha messo in evidenza che, con la rTMS ad una frequenza di 20 Hz e una intensità del 100% e 110% della soglia motoria, si può evitare un aumento cumulativo dell'eccitabilità corticale quando le serie di stimoli sono rilasciate in set di 10.

A causa dell'alta probabilità di indurre attività epilettica mediante la rTMS, è necessario sia il monitoraggio dell'EEG che dell'EMG. Il monitoraggio dell'EEG della parte della corteccia direttamente situata sotto il *coil* durante rTMS, è un sensibile indicatore del fatto che la soglia per l'epilettogenesi è stata superata. Il monitoraggio dell'EMG deve avvenire continuamente dal muscolo della mano, come il breve abduktore del pollice (*abductor pollicis brevis*, APB) o il primo muscolo interosseo dorsale, nel lato controlaterale alla distribuzione della rTMS (Wassermann, 1998). Questi muscoli hanno una soglia bassa per produrre MEP e l'apparizione dei MEP durante un esperimento può indicare un'estensione dell'eccitazione dalle aree adiacenti a M1. Comunque, se si presentassero dei MEP nei muscoli non controllati non verrebbero rilevati, quindi in alcuni casi il controllo visivo dell'arto superiore controlaterale potrebbe essere più sensibile dell'EMG.

Nel lavoro di Wassermann e coll. (1998) è stato evidenziato come la diffusione dell'eccitazione avveniva prima di un attacco, durante la stimolazione della corteccia

prefrontale. In realtà, sarebbe chiaramente ottimistico aspettarsi che l'attività EMG possa apparire prima del diffondersi di un attacco, generatosi a qualche significativa distanza dalla corteccia motoria primaria. Il problema del monitoraggio della diffusione dell'eccitabilità sembra risolversi con gli stimoli della rTMS rilasciati su M1. Infatti, negli esperimenti che utilizzano la rTMS con un'intensità dello stimolo inferiore alla soglia motoria, il muscolo target può essere monitorato, osservando la presenza di attività EMG evocata. Negli studi sui potenziali evocati motori dovrebbero essere monitorati almeno due muscoli nel braccio controlaterale al sito di stimolazione. Ad esempio, se la stimolazione ha lo scopo di produrre MEP isolati nel muscolo breve abducente del pollice la presenza di MEP nel muscolo dell'avambraccio, quale ad esempio il muscolo estensore radiale del carpo (*extensor carpi radialis*, ECR), potrebbe indicare una diffusione intracorticale dell'eccitazione oppure un abbassamento della soglia motoria. Tuttavia, anche in questo caso un attento monitoraggio visivo (anche in combinazione con l'EMG) potrebbe permettere di evidenziare la diffusione dell'attività elettromiografica evocata. Per i motivi sopra descritti, è consigliabile, negli studi ad alto rischio, servirsi di un monitoraggio video.

Inoltre, le registrazioni video possono costituire un valido ausilio nell'evidenziare persistenti spasmi muscolari e la diffusione dell'eccitazione e, ancora, nel ricostruire gli eventi clinici che precedono l'attacco. I soggetti dovrebbero essere attentamente osservati da personale esperto durante la stimolazione magnetica ripetitiva.

Inoltre, è importante per i ricercatori esplorare gli effetti non prestabiliti potenzialmente avversi che si presentano durante rTMS e, i mezzi più sensibili per

individuare qualsiasi effetto permanente di rTMS appaiono essere i test di funzioni cognitive (Pascual-Leone e coll., 1993; Wassermann e coll., 1996a; Chen e coll., 1998a). Le batterie di test cognitivi sono, infatti, di breve durata e facili da somministrare, ma sensibili abbastanza da evidenziare deficit sottili. Una batteria discretamente comprensiva dovrebbe contenere test su tempi di reazione semplice e a scelta, sull'abilità di inibire risposte automatiche, sull'abilità di richiamare a mente ed esprimere simboli, sulla memoria episodica e sulla memoria di lavoro verbale e non verbale, sul recupero di informazioni (presentate prima della rTMS), sulle funzioni esecutive, e soprattutto sullo stato funzionale.

È necessario che sia la TMS ad impulso singolo che la rTMS siano eseguite da personale medico qualificato. Nel caso di studi ad alto rischio è fondamentale la presenza di un'*equipe* d'emergenza e di personale qualificato nelle immediate vicinanze. Il soggetto deve essere assistito in accordo alla pratica medica corrente, valutando la gravità e la durata degli attacchi, lo stato generale di salute del soggetto e il protocollo locale di emergenza. È indispensabile che i soggetti vengano informati della natura di questo e altri eventuali rischi. La procedura deve, inoltre, prevedere il consenso informato dei soggetti partecipanti all'esperimento e i ricercatori devono garantire ai soggetti la conoscenza delle eventuali implicazioni della rTMS.

Per quanto riguarda le controindicazioni alla rTMS, si sconsiglia l'uso della tecnica in determinate situazioni cliniche a meno che non si prevede, ogni qualvolta, un evidente effetto benefico maggiore del rischio del danno, come nel caso del trattamento di gravi depressioni. Quindi, si sconsiglia la rTMS su soggetti con

*pacemaker* cardiaco, individui con seri problemi di salute, soggetti con aumentata pressione intracranica, come nel caso di infarti acuti o traumi. Data l'attuale scarsa conoscenza sui possibili effetti negativi della rTMS sul sistema nervoso centrale, è preferibile evitare di sottoporre i bambini alla stimolazione magnetica ripetitiva, tranne i casi di evidenti ragioni cliniche, come il trattamento di epilessia o depressione.

Gli effetti della rTMS sul feto non sono ancora stati chiaramente compresi. Data la scarsità di informazioni a riguardo, è bene evitare di usare la tecnica su donne in gravidanza. Anche pazienti che assumono antidepressivi triciclici o agenti neurolettici o altri tipi di farmaci sono controindicati ad essere i soggetti sperimentali da sottoporre a rTMS.

Infine, gli sperimentatori dovrebbero servirsi di un questionario standard per lo *screening* dei candidati all'esperimento, valutando la loro storia clinica (eventuali traumi cranici, operazioni chirurgiche alla testa, la presenza di attacchi, cure farmacologiche, malattie neurologiche o di altra natura, storia familiare di epilessia).



### 1.4.2 Applicazioni terapeutiche

Le tipiche applicazioni terapeutiche della rTMS riguardano gravi depressioni, disturbi dell'umore, alcuni disturbi psichiatrici, disturbi del movimento e casi di epilessia.

In pazienti affetti da epilessia, è stata utilizzata la rTMS a bassa frequenza (*single-pulse* TMS) da Düzel e coll. (1996) per identificare la lateralizzazione delle funzioni della memoria verbale e non verbale, inducendo dei deficit alla memoria. I 20 pazienti ricevevano stimolazioni TMS sui lobi temporali in maniera sincrona o 200 ms dopo la presentazione di varie prove, quali il test di Corsi (*Corsi Block Test*) e il *Digit Span test*. Solo nel caso di pazienti con epilessia al lobo temporale sinistro e TMS erogata in tal punto, si osservava un effetto immediato e significativo sul *Digit Span test*. Nessun effetto si osservava nei pazienti con focolaio epilettico al lobo temporale destro.

Diverse ricerche hanno mostrato che la rTMS della corteccia prefrontale di soggetti sani può influenzare il loro umore. Sono risultati, infatti, piccoli ma significativi aumenti nella felicità e vivacità dopo stimolazione dell'area prefrontale destra, e l'effetto opposto, generalmente aumento di tristezza, dopo stimolazione dell'area prefrontale sinistra (George e coll., 1996c; Pascual-Leone e coll., 1996a; Martin e coll., 1997). Infatti, la maggior parte degli studi che hanno posto attenzione su questo tema, hanno osservato che le regioni che si attivano durante determinate emozioni, sono la corteccia prefrontale, temporale anteriore e le regioni limbiche,

inclusa l'amigdala (George e coll., 1996a, 1999b). Un lavoro più recente ha mostrato che l'amigdala risponde specificatamente alla visione di visi spaventati o minacciati (Breiter e coll., 1996), persino quando il soggetto non è consapevole di tale percezione (Whalen e coll., 1998). George e coll. (1995) e Lane e coll. (1997) hanno osservato come uno stato transitorio di autoinduzione di tristezza (come pensieri tristi e percezione di visi tristi), attiva la regione paralimbica anteriore (poli temporali, giro cingolato, corteccia mediale prefrontale) allo stesso modo di quando il soggetto non esperisce tristezza. Da uno studio successivo di George e coll. (1996d) è emerso che questa attivazione è specifica per il genere, con una maggiore attivazione nelle donne.

L'eccitazione di queste stesse aree si ottiene con la somministrazione di farmaci che alterano l'umore, come la procaina (Ketter e coll., 1996).

La storia della rTMS come trattamento antidepressivo ha inizio nel 1902, quando Pollacksek e Beer intuirono l'utilità di un elettromagnete per il trattamento della depressione. Sebbene questa idea abbia preso forma un secolo fa, tuttavia, solo con l'introduzione, nel 1990, di stimolatori più efficaci è stato possibile perfezionare ed applicare questa tecnica allo studio (e trattamento) della depressione. George e Wassermann (1994) hanno ipotizzato che una stimolazione non convulsiva della corteccia prefrontale può esercitare un effetto antidepressivo. Il campione dello studio in questione era composto da 6 soggetti depressi che non mostrarono una buona risposta ai farmaci e ricevettero quotidianamente rTMS a 5-20 Hz sulla corteccia prefrontale dorsolaterale (DLPFC) sinistra. Un trattamento di 5 giorni fu sufficiente a

determinare una riduzione dei punteggi della scala Hamilton della depressione (*Hamilton Rating Scale for Depression*, HRSD) del 26% dalla *baseline*.

Successivamente, Pascual-Leone e coll. (1996d), servendosi della rTMS sulla corteccia prefrontale dorsolaterale (DLPFC) sinistra, per 5 giorni su 17 pazienti con depressione psicotica, hanno osservato su 11 di loro un consistente effetto antidepressivo della stimolazione corrispondente a una riduzione del 50% nei punteggi HRSD. Il protocollo di questo studio differisce dai protocolli standard di trattamento psichiatrico poiché i pazienti ricevettero rTMS per 5 giorni sulle varie regioni cerebrali e rimasero liberi da trattamenti supplementari per il resto del mese.

Per il periodo totale di 5 mesi dello studio, i pazienti ricevettero solo 5 giorni di trattamento attivo, ossia di rTMS sulla DLPFC sinistra. E' stato difficile replicare questi risultati in altri studi (Grunhaus e coll., 1998; Loo e coll., 1999), tanto che si è riscontrato anche come la depressione psicotica possa essere resistente al trattamento con rTMS (Grunhaus e coll., 1998; Pridmore e coll., 1999). George e coll. (1997) hanno studiato la rTMS su 12 pazienti con disturbo depressivo maggiore (MDD) ricorrente, descrivendo un significativo, ma tenue, effetto della rTMS sulla DLPFC sinistra relativo ai punteggi depressivi. Figiel e coll. (1998) hanno effettuato un esperimento di rTMS sulla DLPFC sinistra somministrata per 5 giorni, notando che nei pazienti più vecchi, particolarmente in quelli con depressione a inizio ritardato, e nei pazienti con psicosi era presente una risposta scarsa.

Più recentemente, Klein e coll. (1997, 1999) hanno sottoposto a caso 71 pazienti esterni depressi a due settimane di rTMS a bassa frequenza attiva o finta (*sham*) sulla

corteccia prefrontale destra usando un *coil* circolare, non focale. Il 41% dei pazienti appartenenti al gruppo trattato attivamente risposero con almeno un 50% di diminuzione del punteggio alla HRSD.

Padberg e coll. (1998) hanno studiato 18 pazienti depressi non psicotici con rTMS attiva e *sham* sia a bassa frequenza che ad alta frequenza, stimolando sempre la corteccia prefrontale sinistra. Dopo 5 giorni, 5 su 6 pazienti del gruppo di rTMS lenta e 3 su 6 del gruppo di rTMS rapida migliorarono (20-30% di diminuzione nella HRSD), mentre nessun cambiamento si osservò nel gruppo con stimolazione *sham*.

Gli autori conclusero che la rTMS prefrontale sinistra, sia lenta che veloce, era ugualmente efficace. In un altro studio (Grunhaus e coll., 1998) 40 soggetti con grave depressione sono stati sottoposti a rTMS ad alta frequenza sulla DLPFC sinistra o a terapia elettroconvulsiva (*electroconvulsive therapy*, ECT). Nel caso di pazienti non psicotici il trattamento rTMS quotidiano per 4 settimane mostra la medesima efficacia dell'ECT. Quest'ultima, dimostra la sua superiorità solo con pazienti affetti da depressione psicotica e, anche se attualmente è considerata come il più potente trattamento antidepressivo, per quanto riguarda la patogenesi della malattia e i meccanismi di azione antidepressivi, sembra che la TMS non interferisca con l'ECT, ma, al contrario, le due tecniche si potrebbero considerare complementari. Questi risultati sono incoraggianti e supportano un importante ruolo della rTMS nel trattamento di gravi depressioni e una possibile futura alternativa all'ECT per i pazienti con MDD senza psicosi, ma è necessario raccogliere ulteriori dati clinici per poter arrivare a definire più precisamente il ruolo di tale tecnica in questa sindrome.

Per quanto concerne l'area della corteccia da stimolare più efficace per produrre cambiamenti nell'umore, essa sembra essere principalmente la regione prefrontale, dato che le stimolazioni in altre regioni non hanno prodotto dei risultati simili ai precedenti. Inoltre, vi è una preponderanza di studi circa la rTMS sulla DLPFC sinistra.

Spostando l'attenzione sui tipi di depressione che rispondono a rTMS, la maggior parte dei pazienti studiati erano resistenti ai farmaci. Anche i pazienti con forme lievi di depressione rispondevano alla rTMS, forse con effetti migliori (Nahas e coll., 1999) ed è così anche per i pazienti sia con depressione unipolare che bipolare (George e coll., 1999b). In conclusione, questi studi iniziali suggeriscono che la rTMS focale della corteccia prefrontale può esercitare effetti antidepressivi simili ad altri antidepressivi, con forse una più rapida velocità di risposta (2 settimane) (George e coll., 1999a).

Mentre la rTMS ha un effetto antidepressivo sulla corteccia prefrontale sinistra, essa ha un effetto antimaniacale qualora venga erogata sulla corteccia prefrontale destra (Yaroslavsky e coll., 1999). Infatti, questi autori hanno effettuato uno studio per valutare una possibile influenza terapeutica della rTMS nella mania. In tale studio 16 soggetti affetti da questa sindrome furono sottoposti a 10 sessioni giornaliere consecutive, di 20 treni per sessione, con un intervallo intertreno di 1 minuto, dopo tre, sette e quattordici giorni dal trattamento di base. Ogni partecipante riceveva una stimolazione sulla corteccia prefrontale sinistra o destra. I risultati ottenuti suggerirono degli effetti terapeutici della rTMS della corteccia prefrontale destra

nella mania. E' interessante notare che l'ECT unilaterale destra non è stata trovata efficace nella mania in un piccolo gruppo di pazienti (Milstein e coll., 1987) e che l'emisfero considerato è opposto a quello in cui sono stati riportati effetti antidepressivi. Questi risultati per essere confermati necessiterebbero, comunque, di un campione di pazienti più ampio (Yaroslavsky e coll., 1999).

Pascual-Leone e coll. (1993) hanno verificato gli effetti della rTMS sui livelli di diversi tipi di ormoni, inclusa la prolattina, adrenocorticotropo, e ormone della tiroide. Gli unici cambiamenti ormonali osservati furono quelli in soggetti che avevano avuto un attacco (*seizure*). Infatti, anche Wassermann e coll. (1996a) non hanno riportato cambiamenti nei livelli di prolattina utilizzando la rTMS sia a frequenza di 1 Hz che a 20 Hz. Tuttavia, si potevano osservare degli incrementi nell'ormone tiroideo parallelamente al decremento della tristezza impiegando la rTMS a 5 Hz sull'area prefrontale destra (George e coll., 1999c).

Hallett e coll. (1999) hanno osservato, inoltre, mediante l'uso delle rTMS, l'inibizione temporanea della corteccia occipitale in pazienti ciechi, dimostrando che tali soggetti utilizzano la corteccia occipitale quando leggono in Braille.

Molti dei dati circa l'abilità della rTMS di produrre inibizione permanente e facilitazione provengono da studi sulla corteccia motoria primaria e sul tratto corticospinale, con la soglia e l'ampiezza dei MEP come indice dell'eccitabilità.

Studi su altre aree corticali, ad esempio l'area motoria supplementare e la corteccia prefrontale dorsolaterale, hanno esplorato il ruolo di tali aree nell'apprendimento e nella generazione di sequenze motorie. Pascual-Leone e coll.

(1994b) studiarono gli effetti della rTMS, applicata sulla corteccia motoria, in pazienti con disturbo di Parkinson che dovevano eseguire dei compiti seriali di reazione a tempo, come misura dell'apprendimento visuo-motorio. Nei soggetti normali di controllo, impulsi rTMS sottosoglia a 5 Hz non producevano dei cambiamenti nelle *performance*, mentre nei pazienti affetti da disturbo di Parkinson, la rTMS diminuiva significativamente i tempi di reazione senza influire sull'ammontare degli errori. Questi risultati suggeriscono che la rTMS sottosoglia sulla corteccia motoria può migliorare alcuni aspetti delle abilità motorie apprese nei pazienti con disturbo di Parkinson e potrebbe essere un'utile terapia aggiuntiva.

Alcuni studi hanno visto anche come la rTMS ad 1 Hz erogata sulla corteccia motoria di pazienti con tic, può sopprimere il fenomeno motorio dei tic sul lato controlaterale alla stimolazione (Hallett e coll., 1999).

Gli studi circa l'effetto della rTMS, a diverse frequenze, sull'eccitabilità della corteccia motoria, suggeriscono la possibilità di manipolare l'attività neuronale in modo da portare dei benefici in determinate condizioni. Per esempio, i risultati dello studio di Chen e coll. (1997a), riguardo il fatto che la stimolazione della corteccia motoria primaria (M1) ad un'intensità soprasoglia e ad una frequenza di 1 Hz produce l'inibizione dei MEP entro pochi secondi per un periodo di diversi minuti e, lo studio di Pascual-Leone e coll. (1994a), nel quale l'applicazione della rTMS a frequenze più elevate, 5 Hz o più, può portare un aumento persistente nell'eccitabilità che può durare per più di diversi minuti, sono stati impiegati nel trattamento mirato a correggere lo squilibrio dell'attività corticale. McCann e coll. (1998) hanno

impiegato 1 Hz di stimolazione per trattare il disturbo post-traumatico da stress con recupero compulsivo di ricordi traumatici, legato ad iperattività corticale medio-frontale e temporale osservata sulla PET.

L'abilità della rTMS a bassa frequenza, sulla corteccia motoria primaria (M1), di produrre una soppressione permanente dei MEP, potrebbe essere utile nel decremento dell'eccitabilità corticale anomala nell'epilessia. In un primo studio l'applicazione per 30 minuti di rTMS di 1 Hz ha prodotto una diminuzione temporanea delle mioclonie di origine corticale (Hallett e coll., 1999).



## 1.5 Stimolazione magnetica e sonno

### *1.5.1 L'utilizzo della stimolazione magnetica corticale durante il sonno*

La stimolazione magnetica transcranica (TMS) rappresenta una metodica non invasiva utile nell'indagare le vie motorie e l'eccitabilità corticale durante il sonno in condizioni fisiologiche e patologiche (Manganotti e coll., 2001a).

Alcuni ricercatori che hanno sperimentato tale metodica nel sonno hanno focalizzato la loro attenzione sullo studio dell'eccitabilità corticale durante la fase REM. L'interesse di tali ricercatori nasce dal fatto che, in questa fase, è presente una tonica inibizione post-sinaptica del II motoneurone da parte di vie reticolospinali a partenza dalla regione del locus coeruleus, responsabili della fisiologica atonia muscolare. L'impulso corticale, generato dallo stimolo magnetico, si riflette pertanto su un motoneurone iperpolarizzato che, teoricamente, non dovrebbe essere in grado di generare un MEP o, perlomeno, dovrebbe produrre un MEP d'ampiezza minore rispetto alla veglia o rispetto alla fase non-REM, in cui l'iperpolarizzazione d'origine tronco-encefalica viene a mancare (Guilleminault e coll., 1974). Quest'ipotesi non ha, tuttavia, trovato un riscontro oggettivo. I primi a confutarla furono Hess e coll. (1987) che, durante il sonno notturno di 3 soggetti sani, moderatamente deprivati di sonno, riuscirono ad evocare MEP da stimolo magnetico in tutti gli stadi di sonno compresa la fase REM. La media della ampiezze dei MEP registrate da Hess era lievemente,

ma significativamente, diminuita durante il sonno ad onde lente (SWS) e invariata, o addirittura aumentata durante la fase REM, pur tenendo conto di un'elevata variabilità inter e intraindividuale. Hess ipotizzava che alla base di questo inatteso risultato ci potesse essere un'aumentata eccitabilità corticale motoria in REM rispetto alla veglia. Ciò, renderebbe più suscettibile l'area motoria allo stimolo magnetico e giustificerebbe il superamento dell'inibizione spinale tipica di tale fase. Hess prende in considerazione anche la possibilità che lo stimolo magnetico ecciti non solo la via piramidale, ma anche un'altra ipotetica via nervosa cortico-bulbare che inibisca transitoriamente la regione del locus coeruleus neutralizzando quindi la sua azione inibitoria sulle cellule spinali. Ma una via diretta cortico-bulbare ad azione inibitoria sul locus coeruleus non è ancora stata dimostrata e non è neanche ipotizzabile la presenza di un circuito oligosinaptico più complesso responsabile di tale disinibizione, in quanto sarebbe troppo lento per precedere l'attivazione piramidale monosinaptica delle cellule spinali. Si consolida quindi l'ipotesi che in REM la corteccia motoria sia ipereccitata. Secondo Hess (1987) l'incremento dell'eccitabilità è d'origine presinaptica, dovuta ad un'azione facilitante dei circuiti intracorticali modulanti la via motoria. A sostegno di tale teoria possono essere presi in considerazione gli studi di elettrostimolazione *in vivo* di Hodes e coll. (1965) e Marchiafava e coll. (1964) sulla stimolazione della via motoria del gatto durante il sonno REM. Da questi studi emerge infatti che uno stimolo elettrico applicato sulla corteccia motoria durante il sonno REM è in grado di produrre una contrazione

muscolare di entità paragonabile a quella in veglia. Se lo stesso stimolo è indirizzato selettivamente sulle fibre piramidali, oltre i circuiti intracorticali, il MEP è abolito.

Per sopperire all'esiguo numero di soggetti (solo tre) e alla specificità dei muscoli presi in considerazione (solo i piccoli muscoli della mano) nell'esperimento di Hess e coll. (1987), Stalder e coll. (1995) eseguirono uno studio di TMS in diverse fasi ipniche su 14 soggetti sani ma parzialmente deprivati per facilitarne l'addormentamento. La latenza e l'ampiezza dei MEP furono rilevate in veglia, nel sonno ad onde lente (SWS) e in fase tonica e fasica del sonno REM (cioè, sonno attivo senza o con movimenti oculari rapidi) a livello dei muscoli abduktore del V dito (*abductor digiti minimi*, ADM), del trapezio e dei muscoli paravertebrali.

L'ampiezza media registrata in REM, malgrado fosse soggetta a notevole variabilità, era confrontabile a quella in veglia e lievemente inferiore solo quando veniva registrata a livello dei muscoli ADM. Nel SWS il calo d'ampiezza appariva invece un dato più ripetibile e consistente. La latenza media in veglia, in REM e in SWS non mostrava differenze statisticamente significative. La stessa uniformità di valori si evidenziava anche nel confronto tra REM fasica e REM tonica. Quest'ultimo dato in particolare fece supporre che la variabilità in ampiezza riscontrata in REM non fosse da attribuire a variazioni dell'entità dell'inibizione spinale originata dal locus coeruleus, bensì a fluttuazioni dell'eccitabilità corticale motoria, dato già confermato da studi di registrazione intracellulare corticale in REM (Hobson e McCarley, 1971). L'aumento quindi dell'eccitabilità corticale in REM, d'origine

presinaptica, è considerata l'unica possibilità per giustificare la persistenza del MEP in questa fase (Hess e coll., 1987).

Insieme a Rosler e coll. (1994), Hess scelse l'evento patologico cataplettico come paradigma di studio. La cataplessia è caratterizzata da un'improvvisa e transitoria atonia muscolare focale o generalizzata in assenza di alterazione dello stato di coscienza. L'aspetto fisiopatologico dell'evento cataplettico simula quello di una brusca incursione di fase REM in veglia, in assenza di un substrato ipnico (Dement e coll., 1966; Aldrich, 1992). Con tutta probabilità, anche l'atonia cataplettica è conseguenza, infatti, di un'inibizione spinale post-sinaptica di origine troncoencefalica (Morales e coll., 1981). La TMS è stata, quindi, applicata su un paziente cataplettico durante due lunghi episodi cataplettici. La soglia MEP e l'ampiezza massima registrata da entrambi i muscoli ADM e trapezi durante l'atonia cataplettica non differivano da quelle registrate in veglia al di fuori dell'attacco.

Quindi i risultati dell'esperimento di Rosler e coll. (1994) sono coerenti con l'ipotesi che la corteccia motoria sia eccitabile durante la cataplessia, e che questo aumento di eccitabilità risieda nella rete corticale e sia presinaptica alle cellule piramidali.

Recentemente la TMS è stata utilizzata al fine di rilevare le conseguenze della privazione ipnica sull'eccitabilità corticale motoria. Questo nuovo campo applicativo appare di grande interesse in quanto la carenza di sonno può facilitare sia l'insorgenza di crisi epilettiche, sia delle modificazioni dell'attività EEG epilettica intercritica (Broughton, 1990). I primi dati in proposito sono stati pubblicati da

Civardi e coll. (2001), i quali, studiando 8 volontari sani, hanno voluto caratterizzare, con l'ausilio della TMS, le modificazioni dell'eccitabilità e del bilancio inibizione/facilitazione della corteccia motoria primaria indotte dalla privazione di sonno. Non sono risultate differenze significative tra la soglia di stimolazione (attiva e a riposo) e il periodo silente della registrazione basale e di quella dopo privazione di sonno. Mentre sono emerse differenze sia dei fenomeni inibitori sia di quelli facilitatori tra le due condizioni, portando alla conclusione che la privazione di sonno è in grado, nel soggetto sano, di modificare il bilancio inibizione/facilitazione nella corteccia motoria primaria, probabilmente dovuta ad una variazione del pool neurotrasmettitoriale cerebrale.

Manganotti e coll. (2001b), hanno studiato 7 soggetti sottoposti a 24 ore di privazione ipnica. Ad intervalli periodici, dalle 9 della mattina, alle 9 del mattino seguente, venivano rilevati i principali parametri di TMS a singolo e doppio impulso.

Dallo studio emerge un significativo e progressivo aumento della soglia motoria a riposo e attiva dopo privazione di sonno. Si è osservato durante la notte, nelle registrazioni delle ore 3 e 6, un significativo potenziamento dell'inibizione intracorticale (più evidente ad intervalli interstimolo di 2-3 ms). Il periodo silente tende ad aumentare nel corso della notte con un ritorno a valori basali il mattino seguente. Tali modificazioni mostravano un andamento parallelo alla sonnolenza riferita dai soggetti. Le alterazioni degli altri parametri esaminati durante la privazione di sonno (ampiezza del MEP, ampiezza della risposta F) non sono risultate

significative. In conclusione, la privazione di sonno diminuirebbe l'eccitabilità corticale motoria potenziando i meccanismi inibitori GABAergici.

Uno studio simile, ma non sovrapponibile, ha recentemente impegnato Scalise e coll. (2001): la TMS è stata applicata su 8 volontari in due sedute, cioè, in condizioni basali e dopo un tempo variabile di 24-36 ore di privazione totale di sonno. I risultati sono opposti rispetto allo studio di Manganotti e coll. (2001b): la soglia motoria risulta invariata, l'inibizione intracorticale e il periodo silente risultano significativamente diminuiti. Secondo questo studio quindi, l'eccitabilità corticale motoria è aumentata per effetto diretto depotenziante sui fenomeni inibitori.

L'ipereccitabilità corticale riscontrata dopo privazione viene messa in relazione dagli autori con il fenomeno dell'epilettogenesi. L'incongruità, in termini di risultati, dei due studi dimostra la necessità di proseguire tali ricerche possibilmente con protocolli univoci concordati da più Centri.

Uno studio interessante è stato anche quello di Grosse e coll. (2002) che recentemente, utilizzando la TMS, hanno esaminato l'eccitabilità del sistema motorio negli stadi del sonno non-REM 2, 4 e stadio REM. Lo studio è stato effettuato su 23 volontari sani. Il confronto fra diversi stadi del sonno e tra sonno e veglia ha mostrato come l'attivazione del sistema corticospinale si riduceva in tutti gli stadi del sonno, infatti, vi era un aumento della soglia motoria, un appiattimento della curva "ampiezza MEP" e latenza MEP prolungata. Il dato più interessante fu quello di osservare una più bassa soglia motoria nello stadio non-REM4 rispetto allo stadio non-REM2 e REM ed inoltre, che la curva dell'ampiezza MEP era solo

moderatamente appiattita nello stadio non-REM4 se confrontata a quella dello stadio non-REM2 e REM. Ciò significa che nello stadio non-REM2 l'eccitabilità corticospinale è più bassa rispetto allo stadio non-REM4. Quindi, l'incremento dell'eccitabilità corticospinale nel sonno sincronizzato rifletterebbe la propagazione delle oscillazioni lente corticali che iniziano dallo stadio non-REM2 e sarebbero massime durante lo stadio non-REM4 (Amzica e coll., 1997).

La TMS può fornire interessanti informazioni sulle vie motorie e sull'eccitabilità corticale durante il sonno anche in condizioni patologiche. Questo è il caso della Sindrome delle gambe senza riposo (SGSR) che, negli ultimi anni, è stata oggetto di studio da parte di più ricercatori, interessati ad evidenziare eventuali alterazioni funzionali della via corticospinale, in particolar modo la sua disinibizione, innescate da modificazioni "sonno correlate" (Manconi e coll., 2000). La SGSR si caratterizza per una spiacevole sensazione sensitiva prevalentemente a carico degli arti inferiori che insorge tipicamente a riposo, durante il rilassamento muscolare, in particolare nelle ore serali e notturne, rendendo spesso difficoltoso l'addormentamento (Walters, 1995). Manconi e coll. (2000) hanno impiegato la TMS su 15 soggetti affetti da SGSR primaria, comparati con 17 soggetti normali. Dai risultati del presente studio, gli autori hanno concluso che la funzionalità della via motoria corticospinale non sembra significativamente alterata nella SGSR primaria (in accordo con i dati pubblicati da Tergau e coll. -1999- e da Entezari e coll. -1999-), né sembrano importanti nella patogenesi della sindrome le influenze interemisferiche a percorrenza transcallosale. Inoltre, lo studio TMS intracorticale mostra un'alterazione della

funzionalità dei circuiti intracorticali caratterizzati da una significativa disinibizione della via motoria e, in minor misura, da un aumento della sua facilitazione, in particolare nelle aree riferibili al controllo degli arti inferiori. L'interessamento dei meccanismi inibitori intracorticali riscontrato in questa sindrome potrebbe essere l'effetto d'influenze sottocorticali a proiezione sulle aree motorie corticali (Manconi e coll., 2000).

La TMS, inoltre, è stata applicata per studiare l'eccitabilità corticale in pazienti affetti da Sindrome delle apnee morfeiche ostruttive (Guastamacchia e coll., 2000).

Questa sindrome è caratterizzata dalla comparsa, durante il sonno, di ripetuti episodi d'ostruzione delle vie aeree superiori che provocano l'interruzione del flusso aereo, desaturazione d'ossigeno e molteplici risvegli dal sonno. I risultati del presente studio depongono per una ridotta eccitabilità della corteccia motoria nei pazienti affetti da Sindrome delle apnee morfeiche ostruttive, contribuendo, quindi, alla fisiopatologia dei disturbi diurni caratteristici della sindrome, quali l'eccessiva sonnolenza, la scarsa concentrazione e l'astenia (Guastamacchia e coll., 2000).



### *1.5.2 L'influenza della stimolazione ripetitiva sulla struttura del sonno successivo*

La rTMS è stata ampiamente utilizzata come trattamento antidepressivo (Pascual-Leone e coll., 1996d). I primi e i più frequenti sintomi riferiti dai soggetti depressi sono i disturbi del sonno e una delle caratteristiche del sonno dei pazienti depressi è una ridotta latenza REM (Benca e coll., 1992). Sulla base dell'ipotesi che il sonno REM nei soggetti depressi sia anormale, Cohrs e coll. (1998) ipotizzarono che la rTMS induca un effetto antidepressivo attraverso dei cambiamenti del sonno REM. In relazione a ciò, tali autori applicarono, su 13 soggetti sani, 160 treni di stimolazione ad alta frequenza (20 Hz) su sei diverse posizioni dello scalpo. Emerse un significativo prolungamento della latenza REM, soprattutto dopo stimolazione prefrontale sinistra, nonostante non ci fossero grandi differenze tra la stimolazione delle varie posizioni dello scalpo. La rTMS portò inoltre ad un significativo prolungamento della lunghezza del ciclo nonREM-REM, anche se il tempo totale di sonno, come la percentuale di sonno REM, rimasero invariati. Questi risultati indicarono per la prima volta una marcata modificazione negli aspetti del controllo circadiano del sonno REM e nell'organizzazione ultradiana del ciclo REM-nonREM causate dalla stimolazione magnetica applicata al cervello umano (Cohrs e coll., 1998). Il fatto che la rTMS nel presente studio provoca dei cambiamenti del sonno REM in soggetti sani, indica che, questi effetti, sono indipendenti da un disturbo psichiatrico preesistente. Dunque, è probabile che la rTMS, come già noto per i farmaci antidepressivi, cambi l'architettura del sonno REM allo stesso modo nei

soggetti sani (Riemann e coll., 1990) e nei pazienti con depressione maggiore (Sharpley e coll., 1995). Molti farmaci antidepressivi aumentano la neurotrasmissione aminergica e alcuni diminuiscono la neurotrasmissione colinergica. Poiché la latenza REM è prolungata o dall'aumento della neurotrasmissione aminergica, o dalla diminuzione dell'attività colinergica, il ritardo del sonno REM in soggetti sani potrebbe essere dovuto ad un incremento di trasmissione monoaminergica indotta dalla rTMS. Dunque, è plausibile credere che la rTMS induca cambiamenti nell'equilibrio del sistema monoaminergico-colinergico importanti sia per i cambiamenti del sonno REM trovati in questo studio, sia per gli effetti antidepressivi di rTMS (Cohrs e coll., 1998). Inoltre, dato che nei pazienti gravemente depressi è stata trovata abbreviata non solo la latenza REM, ma anche la lunghezza del ciclo nonREM-REM (Taub e coll., 1984), e si è visto come le rTMS intacchi anche questo parametro, gli autori suggeriscono che gli effetti antidepressivi della rTMS riguardino, almeno parzialmente, l'allungamento del periodo del ciclo ultradiano.

Questi cambiamenti indotti dalla rTMS nelle variabili del sonno REM corrispondono agli effetti osservati dopo il trattamento farmacologico (Kupfer e coll., 1981) ed elettroconvulsivo (Grunhaus e coll., 1997) della depressione e forniscono prove stimolanti che gli effetti terapeutici della rTMS nella depressione siano basati su un meccanismo biologico misurabile.

Inoltre, sono stati fatti ulteriori esperimenti per valutare se la rTMS alteri l'omeostasi del sonno notturno, disturbando la continuità del sonno o i parametri del sonno NREM (Hajak e coll., 1999). Non sono stati evidenziati, dopo rTMS, dei

cambiamenti significativi dei parametri dell'omeostasi del sonno (tempo totale di sonno e tempo totale di letto), valutati con i criteri polisonnografici standard (Rechtschaffen e Kales, 1968). E' invece risultato un significativo aumento della latenza del SWS e della latenza dell'addormentamento. Insieme ai cambiamenti dei parametri del sonno REM (Cohrs e coll., 1998) questi risultati sottolineano una possibile influenza della rTMS sui ritmi biologici sonno-veglia (Hajak e coll., 1999). Graf e coll. (2001) hanno impiegato la rTMS ad alta frequenza su 8 soggetti sani senza disturbi del sonno, specificatamente sulla corteccia dorsolaterale sinistra, per osservare se l'attivazione locale di una specifica regione cerebrale durante la veglia possa influenzare le registrazioni EEG di tale regione sia nella veglia che nel sonno successivo. Dai risultati è emerso che la rTMS unilaterale non altera le registrazioni EEG durante la veglia e durante il sonno, tuttavia, essa causa solo una riduzione minima dello stadio 1 nell'intera notte e un leggero aumento dello stadio 4 nel primo episodio non-REM. Gli autori concludono che una singola sessione di rTMS, caratterizzata dagli stessi parametri usati nei protocolli per il trattamento della depressione, non produce effetti locali sul sonno in giovani soggetti sani. Tuttavia, in tale studio, ci sono diversi fattori che possono essere responsabili dell'assenza di chiari effetti della rTMS sull'EEG, come ad esempio, una stimolazione troppo focale, un'intensità degli stimoli insufficiente a produrre cambiamenti EEG a lungo termine, la posizione degli elettrodi che non permetteva di osservare le variazioni indotte dalla rTMS.

## **- CAPITOLO 2 -**

# **DIFFERENZE REGIONALI NEL SONNO**

### **2.1 Differenze di topografia corticale EEG**

Per decenni il sonno è stato percepito come un processo cerebrale globale caratterizzato da assenza d'interazione con l'ambiente, alterazione di consapevolezza e riduzione di processamento dell'informazione, coinvolgendo contemporaneamente ed in maniera omogenea l'intero cervello (Finelli e coll., 2001).

Grazie ad una serie di studi, si è osservato che il sonno non è solamente un fenomeno globale che si estende all'insieme del cervello, ma esso possiede anche aspetti locali (Krueger e coll., 1993; Kattler e coll., 1994). Le cellule con attività importante durante la veglia sarebbero quelle che hanno un maggior bisogno di sonno. Kattler e Borbély (1994) hanno cercato di dimostrare sperimentalmente quest'ipotesi sottoponendo la mano d'alcuni volontari ad una stimolazione vibratoria prolungata, per attivare selettivamente la parte controlaterale della corteccia

somatosensoriale. Lo scopo dello studio era determinare se il territorio corticale attivato durante la veglia presentava un EEG del sonno differente da quello del suo omologo controlaterale. Un paragone tra i due emisferi ha dimostrato uno spostamento dell'attività delle onde lente (o *slow-wave activity*, SWA, 0.4-4 Hz) verso l'emisfero che era stato stimolato durante la veglia, con una differenza statisticamente significativa nelle basse frequenze. Questo effetto era circoscritto unicamente nella derivazione che corrispondeva alla parte stimolata della corteccia e si limitava alla prima ora del sonno. Il risultato ottenuto suffraga l'ipotesi secondo la quale il sonno può presentare delle differenze locali, in funzione dell'attività di certe aree durante la veglia.

Werth e coll. (1996a,b) hanno evidenziato che nella fase iniziale del sonno le derivazioni frontali dell'EEG mostravano un'attività delle onde lente (*slow wave activity*, SWA) maggiore rispetto alle derivazioni posteriori. Tale differenza scompariva nel corso delle fasi ulteriori del sonno dimostrando che l'EEG durante il sonno esibisce delle differenze topografiche stadio-specifiche e frequenza-specifiche lungo l'asse antero-posteriore. Questa osservazione si ricollega a quanto dimostrato da Horne (1993): le regioni frontali sono particolarmente sensibili alla privazione di sonno e la predominanza frontale dell'attività ad onde lente (SWA) potrebbe essere il riflesso di un bisogno maggiore di recupero in quest'area. Inoltre, si può affermare che l'attività ad onde lente (SWA) rivesta un ruolo significativo per l'omeostasi del sonno non-REM. La prevalenza delle onde lente può essere quantificata con l'analisi spettrale dell'EEG realizzata durante il sonno e calcolando la loro potenza nella

banda delle frequenze 0.4-4 Hz (che si riferisce all'attività delle onde lente). L'analisi spettrale EEG è un metodo d'analisi quantitativa del segnale EEG, proveniente dallo scalpo, mediante un sistema di filtraggio; quest'ultimo infatti, analizza il segnale EEG d'origine, rappresentato da onde complesse a lunghezza finita ad un tempo "t" e lo scompone in onde sinusoidali semplici, infinite, modulate in ampiezza e frequenza.

Se si prende in considerazione un determinato intervallo di tempo, detto "epoca" e si stima il valore medio delle onde sinusoidali semplici, si ottiene lo spettro EEG in un periodo di tempo.

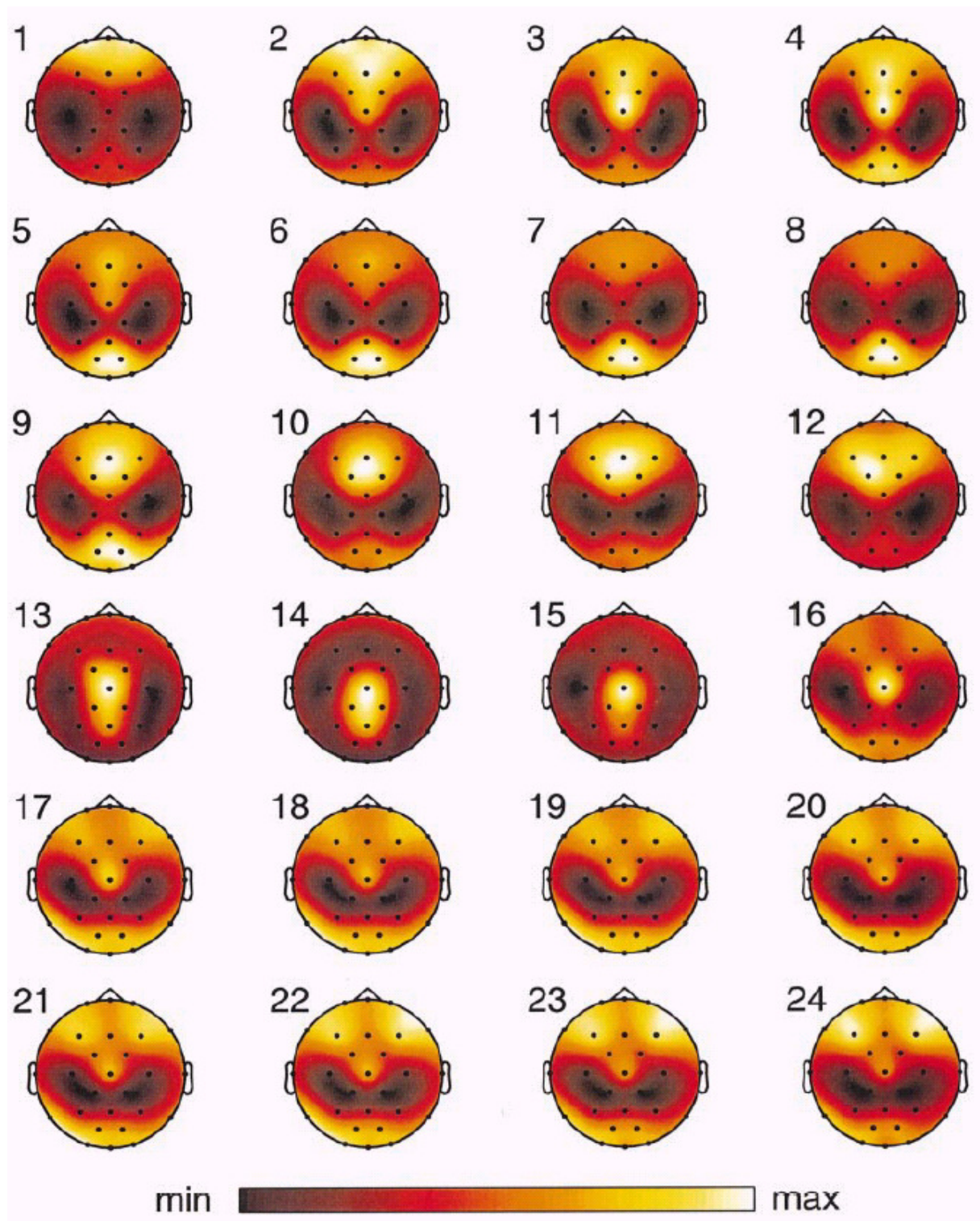
Quando lo stato di veglia si prolunga, l'SWA diventa più intensa (EuroBrain Vol.3, N.3-Dicembre 2001). E' noto che nell'uomo e nei mammiferi in generale, esiste una correlazione tra la durata dello stato di veglia e l'SWA che si potrà osservare durante il sonno che ne segue (EuroBrain Vol.3, N.3-Dicembre 2001).

Queste osservazioni si ricollegano agli studi di privazione totale, parziale o selettiva di sonno. Infatti, nelle notti che seguono quella di privazione totale (*total sleep deprivation*, TSD), si può osservare un aumento dell'attività delta EEG nell'area frontale (Cajochen e coll., 2001) inducendo una relazione di compensazione.

Achermann, Finelli e Borbély (2001) hanno osservato anche come la TSD aumentava la predominanza anteriore dell'attività ad onde lente (SWA) solo all'emisfero sinistro, riflettendo, quindi i processi d'asimmetria funzionale tra emisfero dominante e non dominante durante il sonno.

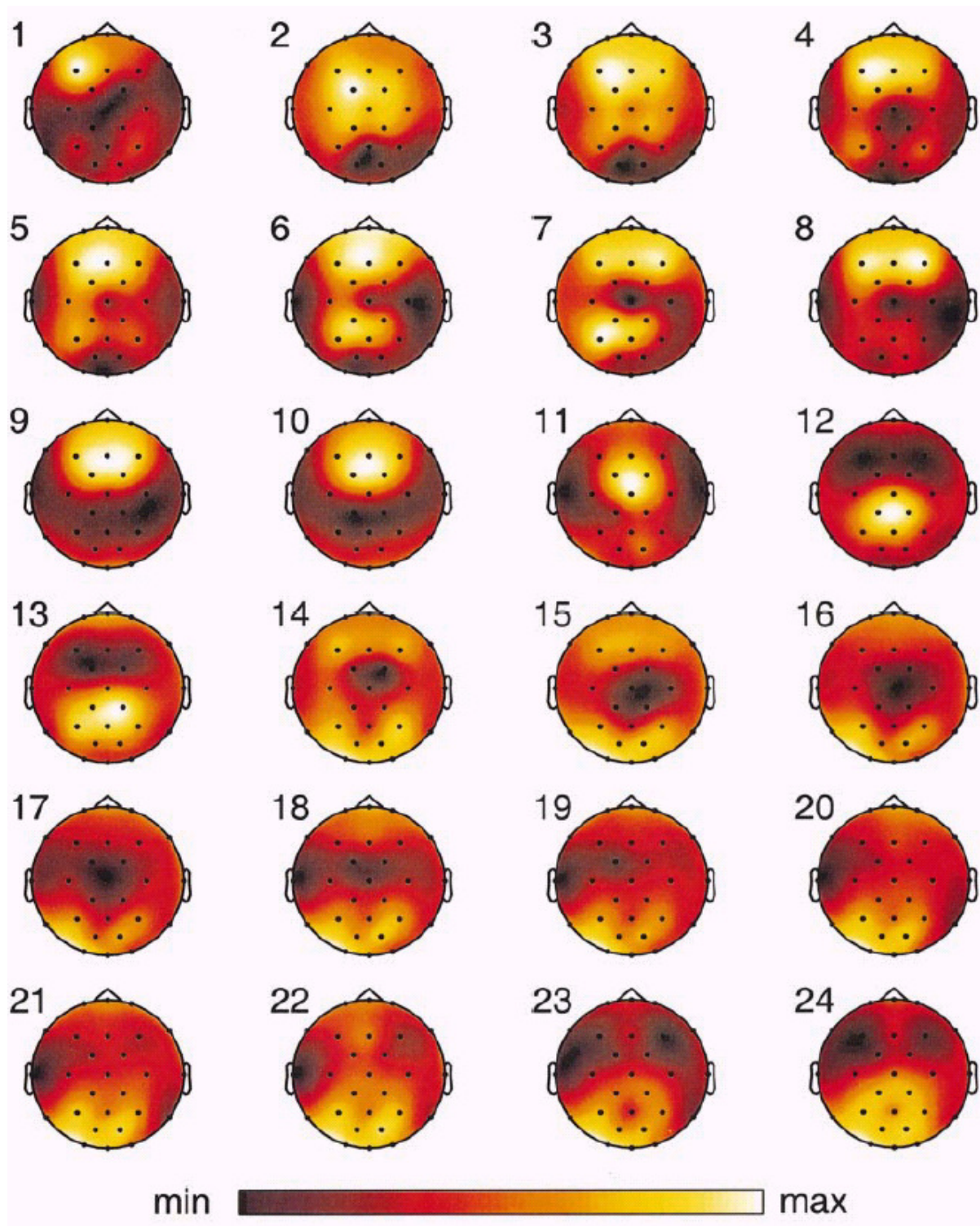
Recentemente è stato messo a punto un'analisi topografica dell'EEG con 27 derivazioni (Finelli e coll., 2001). Tale studio ha messo a confronto lo spettro di potenza EEG durante il sonno non-REM della notte di *baseline* (Fig. 1), con quella di veglia prolungata (Fig. 2). Come evidenziato nella Figura 1, la banda di frequenza delta (1-4 Hz) esibisce una predominanza frontale e valori minimi alle regioni temporali. Nella banda theta (5-8 Hz) i valori più alti sono situati nell'area occipitale e poi si osserva una mappa di 9 Hz transitoria che fa da ponte alle mappe successive relative alla banda di frequenza alfa (9-12 Hz) con dominanza alla regione frontale.

Un *pattern* diverso si osserva nella banda 13-15 Hz (onde sigma) che corrisponde ai fusi del sonno: la massima potenza è localizzata al vertice (Cz) e specialmente nella mappa di 14 Hz, esso è circondato da una forte potenza minima. Un *pattern* uniforme prevale nella banda beta (17-24 Hz) con valori alti sia nelle regioni frontali che occipitali e minori in quelle parieto-temporali e, infine, la mappa di 16 Hz che mostra un *pattern* di transizione. Nelle notti di recupero, dopo deprivazione di sonno, sono stati osservati dei cambiamenti nella distribuzione topografica corticale delle potenze spettrali EEG rispetto la notte *baseline*. Infatti, se prima, l'area frontale era il sito predominante della banda di frequenza 1-4 Hz relativa all'attività delta (Fig. 1), ora, dopo deprivazione di sonno, tale area include anche la banda theta (5-8 Hz) e alfa (9-10 Hz) (Fig. 2). La potenza relativa alla banda di frequenza sigma (13-15 Hz), che era più pronunciata al vertice, dopo deprivazione di sonno, era diminuita.



**Figura 1.** Distribuzione topografica dell'attività EEG durante il sonno non-REM della notte di *baseline*. (Finelli e coll., 2002).





**Figura 2.** Distribuzione topografica relativa ai cambiamenti nell'attività EEG durante il sonno non-REM dalla notte di *baseline* a quella di recupero. (Finelli e coll., 2002).

Questi risultati confermano ancora una volta l'ipotesi dell'importanza della corteccia frontale nei processi omeostatici di regolazione del sonno (Horne, 1993) e dell'eminente ruolo dell'attività ad onde lente (SWA) come indicatore dell'omeostasi del non-REM.

Inoltre, l'incremento delle onde theta alle regioni frontali, dopo deprivazione totale di sonno, sembra essere correlato specificatamente all'aumento della potenza EEG dell'attività delta durante il sonno. Infatti, recentemente Finelli e coll. (2000) hanno registrato degli EEG ad intervalli periodici in persone che erano state sottomesse ad una privazione di sonno. Gli EEG di veglia hanno dimostrato un incremento dell'attività theta (5-8 Hz), riflesso dell'aumento della pressione del sonno. Quando ai soggetti è stato consentito di dormire, è stato possibile constatare che l'attività ad onde lente del loro sonno non-REM era più marcata se paragonata ai periodi di sonno che servivano da riferimento. Questo è infatti un indicatore del sonno più profondo e più intenso. Il fine di tale studio era soprattutto determinare se l'attività theta osservata durante la veglia era connessa all'aumento dell'attività ad onde lente (SWA) registrata durante il sonno. Il confronto delle registrazioni realizzate rivela una correlazione positiva tra l'aumento dell'attività theta nel corso della veglia e un aumento dell'attività ad onde lente (SWA) registrata all'inizio del sonno che ne segue. La conclusione che gli autori ne hanno tratto è che questi due evidenziatori del sonno sono regolati dallo stesso meccanismo omeostatico.

I cambiamenti regionali nell'EEG possono essere degli indicatori di diversi livelli di attivazione corticale (Finelli e coll., 2001). Infatti, alti livelli di attività cerebrale

corrispondono ad incrementi del flusso ematico (per un ulteriore approfondimento si rimanda al paragrafo successivo: “Differenze nel metabolismo cerebrale”).

In accordo con i precedenti risultati, Ferrara e coll. (2002) hanno osservato, in un esperimento di deprivazione selettiva di sonno ad onde lente (*slow-wave sleep*, SWS) per due notti consecutive, che le variazioni delle potenze EEG durante il sonno erano da attribuire esclusivamente all’accumulo di SWS perso, perché la procedura di deprivazione di SWS in questo studio, non modificava gli indici di continuità del sonno tenendo costanti la durata totale del sonno e della veglia (Ferrara e coll., 1999).

Gli stessi autori hanno rilevato cambiamenti topografici nei processi di recupero del sonno da diverse derivazioni poste lungo l’asse antero-posteriore e non solamente da derivazioni centrali. Infatti, durante le notti di deprivazione selettiva di SWS, gli autori hanno ottenuto una riduzione significativa della potenza EEG nelle frequenze delta, theta, alfa nelle derivazioni frontali, centrali e parietali. Tuttavia, la derivazione frontale mostrava una più alta “resistenza” alla procedura di deprivazione, con una riduzione significativa della potenza EEG limitata al *range* lento, delta (0.5- 2 Hz).

Tale “resistenza” dell’area corticale frontale, è, ancora, un indicatore di un forte bisogno di sonno. Mentre poteva essere chiaro un incremento della potenza EEG delta e theta nel recupero del sonno dopo deprivazione di SWS, un aumento significativo del *range* alfa potrebbe apparire contrastante. Tuttavia, alla luce di una revisione nella letteratura psicofisiologica (Pivik e Harman, 1995), si è arrivati alla conclusione dell’esistenza di una differente attività alfa associata ai processi di

mantenimento del sonno. L'aumento dell'attività alfa nella regione frontale durante recupero del sonno conferma questa ipotesi.

Dinamiche omeostatiche EEG simili, sono presenti anche durante il sonno REM, infatti, nello studio di deprivazione di SWS di Ferrara e coll. (2002), i periodi di sonno REM erano caratterizzati da aumenti della potenza EEG, particolarmente evidenti al vertice corticale. Tale incremento potrebbe aver preso parte ad un processo compensativo alla riduzione dell'intensità del sonno non-REM durante la deprivazione selettiva di SWS. Inoltre, il recupero di sonno era caratterizzato da un aumento della potenza EEG nel *range* delta-theta sulle derivazioni frontali e centrali e, in maniera simile, altri studi hanno riportato un ampliamento della potenza EEG nel *range* delta-theta durante sonno REM dopo deprivazione totale e parziale di sonno (Borbély e coll., 1981; Brunner e coll., 1990, 1993). Questi risultati indicano che le modificazioni della potenza EEG durante sonno non-REM, prodotte da una stimolazione acustica, sono capaci di indurre dei processi di recupero anche durante il sonno REM. Infatti, in uno studio di deprivazione di sonno REM (Roth e coll., 1999), gli autori hanno osservato una riduzione di attività alfa durante sonno REM in risposta alla deprivazione selettiva di sonno REM, il cui decremento tendeva a ridursi verso la terza notte di recupero. Gli autori sono arrivati alla conclusione che l'attività alfa nel sonno REM sia inversamente proporzionale alla pressione effettuata su quest'ultima fase, supportando l'ipotesi che l'attività alfa nello stadio REM-EEG sia un indicatore rilevante dell'omeostasi dell'episodio REM.

Ulteriori studi hanno preso in considerazione i fusi del sonno (o *sleep spindles*) e quindi l'attività sigma EEG relativa al *range* di frequenza 12-15 Hz. Ueda e coll. (2001), confrontando le mappe topografiche EEG prima e dopo la comparsa dei fusi del sonno durante lo stadio 2, hanno osservato come tale manifestazione era facilitata dal decremento dell'attività ad onde lente (SWA). Infatti, è stata evidenziata una correlazione negativa tra attività delta e sigma a 12-15 Hz (Uchida e coll., 1991; Aeschbach, Borbély, 1993) che progressivamente tende a diminuire nei periodi consecutivi non-REM (Aeschbach, Borbély, 1993). Recenti evidenze neurofisiologiche mostrano delle variazioni nei potenziali di membrana della rete talamo-corticale che oscillano dal *range* di frequenza dei fusi, con un livello intermedio d'iperpolarizzazione, al *range* di frequenza dell'attività delta con più alti livelli d'iperpolarizzazione (Steriade e coll., 1993d; Steriade, 1999; Dijk e coll., 1993). Sebbene i fusi del sonno siano facilmente rilevabili in tutte le derivazioni EEG dello scalpo, tuttavia, esistono delle specifiche differenze regionali (De Gennaro e Ferrara, 2002). La prima analisi topografica dell'incidenza dei fusi del sonno o dell'attività sigma ha indicato l'esistenza di due distinti tipi di fusi del sonno: i fusi "lenti" a 12 Hz erano maggiori nelle regioni frontali, mentre i fusi "veloci" a 14 Hz erano più prominenti nelle regioni parietali e centrali (Jankel e coll., 1985; Jobert e coll., 1992). Successivamente, molti studi riportano gli stessi risultati (Werth e coll., 1997; Doran, 1995; Tanaka e coll., 1997; Zeitlhofer e coll., 1997; Zygierevicz e coll., 1999). Tuttavia, i due tipi di fusi del sonno potrebbero essere associati agli effetti di

alcune variabili, quali l'età, i fattori omeostatici e circadiani, il ciclo mestruale e gli agenti farmacologici (De Gennaro e Ferrara, 2002).

## 2.2 Differenze nel metabolismo cerebrale

Gli sviluppi delle conoscenze nell'ambito delle biotecnologie hanno reso possibile, anche per la psicofisiologia del sonno, l'utilizzo di metodiche di indagine del funzionamento cerebrale in vivo, diverse dall'EEG. Si tratta di metodiche che determinano da una parte il flusso ematico o il metabolismo cerebrale, dall'altra la localizzazione dei generatori dell'attività elettrica cerebrale (Casagrande e De Gennaro, 1998). Tra le più importanti di queste moderne tecniche di esplorazione funzionale del cervello, cosiddette di "*brain imaging*", vi sono la Tomografia ad Emissione di Positroni (o *Positron Emission Tomography*, PET), la Tomografia ad Emissione di Fotone Singolo (o *Single Photon Emission Tomography*, SPECT), la Spettroscopia Prossima all'Infrarosso (o *Near Infrared Spectroscopy*, NIRS), la Magnetoencefalografia (o *Magnetoencephalography*, MEG), la Risonanza Magnetica Funzionale (o *functional Magnetic Resonance Imaging*, fMRI) (Maquet, 2000).

Per le tecniche di medicina nucleare e, in generale, per tutte quelle associate a rilevazioni del flusso ematico cerebrale, l'assunto di base è di una correlazione stretta tra flusso ematico, metabolismo locale e attività funzionale dei neuroni. Per la magnetoencefalografia, invece, l'assunto è che la registrazione di superficie della distribuzione di campo magnetico permette la stima della sorgente, dell'orientamento e dell'intensità dell'attività elettrica intracerebrale che la genera (Casagrande e De Gennaro, 1998). Ognuna di queste tecniche si basa, quindi, su un preciso segnale e

sono determinate da vantaggi e svantaggi relativi alla risoluzione spaziale, temporale, sicurezza e costi (Toga e Mazziotta, 1996).

Lo studio del flusso ematico e del metabolismo cerebrale in rapporto al sonno nell'uomo ha ricevuto un impulso decisivo nella metà degli anni '50 quando, con la tecnica di inalazione di Ossido di Azoto ideata da Kety e Schimdt (1948), divennero possibili globali misure di flusso fino ad allora impensabili. Fu con questa tecnica che Mangold e coll. (1955), nel soggetto normale durante il sonno non-REM, mostrarono un significativo aumento rispetto alla veglia del flusso ematico cerebrale dell'ordine del 10% e, per contro, una riduzione del consumo di ossigeno di circa il 3%.

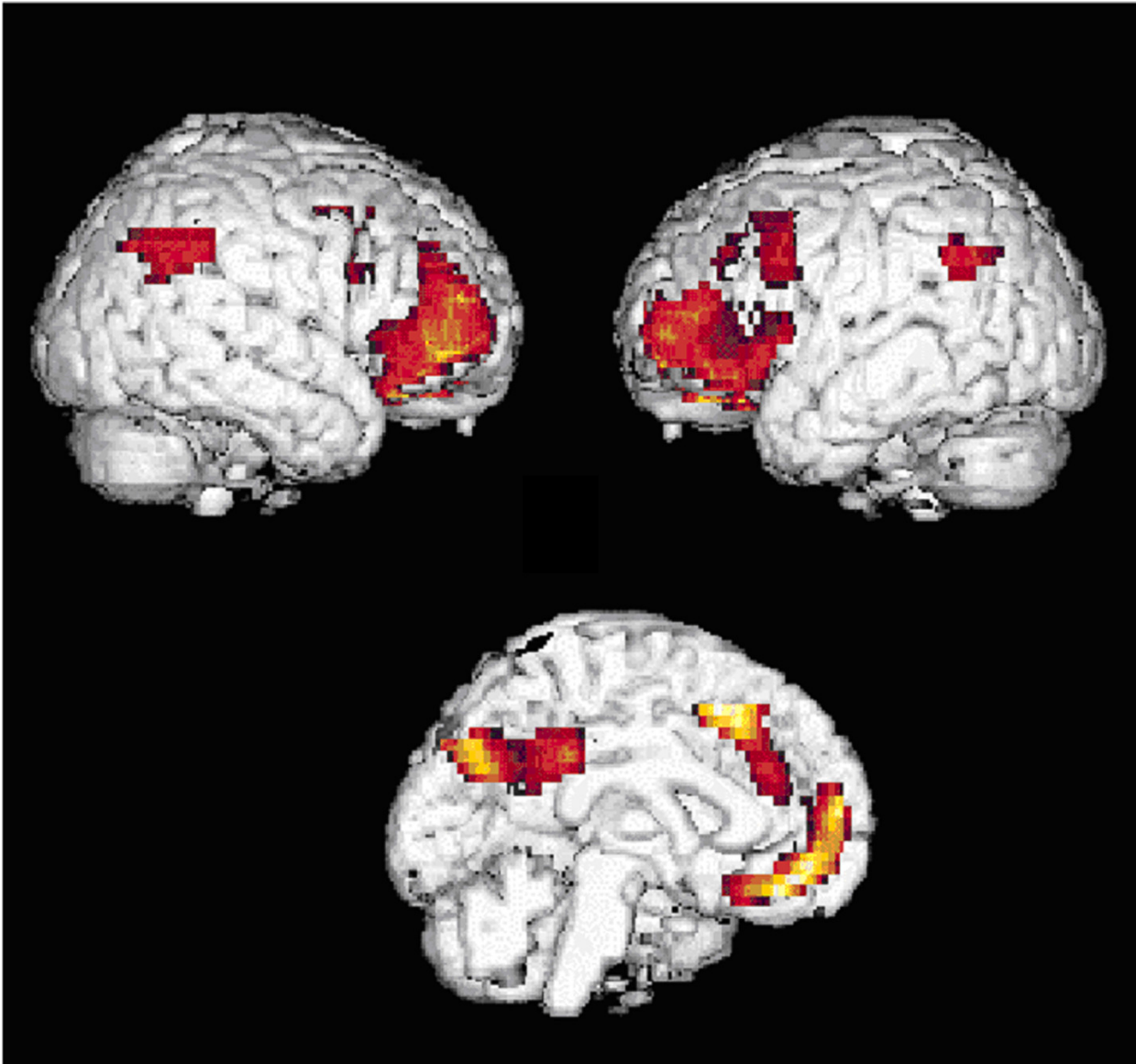
I precisi meccanismi di risposta emodinamica all'attività neuronale locale non sono ancora conosciuti nel dettaglio. I potenziali post-sinaptici e i potenziali d'azione causano dei movimenti ionici attraverso le membrane neuronali che, a turno, inducono un aumento nel metabolismo locale neuronale e delle popolazioni gliali (Magistretti e Pellerin, 1996a,b). Durante questa risposta metabolica, vengono prodotti dei composti che producono una vasodilatazione. I principali vettori di questa risposta vascolare sono gli ioni K (Paulson e Newmann, 1987; Kuchinsky, 1997), ioni H (Kuchinsky, 1997), ossido nitrico (NO; Northington e coll., 1992; Dirnagel e coll., 1993) e adenosina (Ko e coll., 1990; Dirnagel e coll., 1993). Questi eventi si presentano in prossimità delle sinapsi e il flusso ematico cerebrale regionale (o *regional Cerebral Blood Flow*, rCBF) riflette l'attività sinaptica locale (Jueptner e Weiller, 1995). I meccanismi di base della regolazione del CBF persistono anche durante il sonno. Come durante la veglia (Göbel e coll., 1990; Kuchinsky e Paulson,



1992; Villringer e coll., 1994), tutti i capillari rimangono aperti anche durante il sonno (Zoccoli e coll., 1996), sebbene la risposta vascolare sia quantitativamente diversa nel sonno attivo, in quello calmo e nella veglia (Maquet, 2000).

Maquet (2000), infatti, ha descritto le aree cerebrali nelle quali l'attività neuronale tende a modificarsi durante ogni stato di coscienza: veglia, sonno ad onde lente (SWS) e sonno REM. Durante la veglia, la distribuzione del rCBF è variabile e dipende dai compiti cognitivi nei quali il soggetto è impegnato. Nel caso particolare degli studi sul sonno, i soggetti vengono esaminati mentre sono ancora distesi al buio e con gli occhi chiusi. Questa è la condizione più a lungo usata come "condizione di controllo a riposo" (*control resting condition*) e nella quale viene continuamente registrato, mediante EEG, il ritmo alfa dalle derivazioni posteriori e nella quale viene dato ad ogni soggetto un set di compiti cognitivi. Come mostra la Figura 3, le aree cerebrali più attive nella veglia rispetto al SWS e sonno REM, sono quelle prefrontali, il cingolo anteriore, la corteccia parietale e il precuneo.

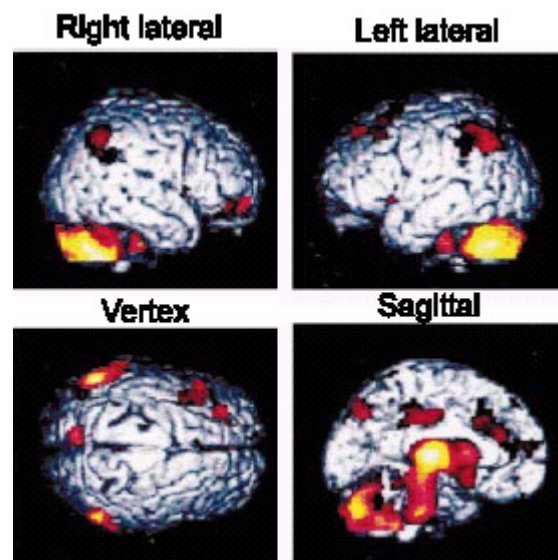
Durante il SWS le ampie popolazioni neuronali oscillano, in maniera sincrona, entro certe bande di frequenza (Steriade e coll., 1990, 1993a; Steriade e Amzica, 1998). A livello cellulare, questi ritmi alternano periodi di *burst* e lunghi momenti di iperpolarizzazione; sono proprio quest'ultimi che influenzano maggiormente il CBF portando ad un suo decremento regionale (Maquet, 2000). Il grado di deattivazione di una particolare area cerebrale (in termini di rCBF) dipende dai meccanismi che generano il ritmo del sonno e, nel caso del SWS, dall'inibizione mediata dal GABA localizzata nel talamo (Steriade e coll., 1993b) e dalla disfacilitazione dei neuroni



**Figura 3.** Riproduzione delle superficie delle aree cerebrali più attive nella veglia rispetto al sonno (SWS e REM) (Maquet, 2000).

piramidali e dagli interneuroni della corteccia (Contreras e coll., 1996). Quindi, le proporzioni dei neuroni locali impegnate nelle oscillazioni sincrone del SWS

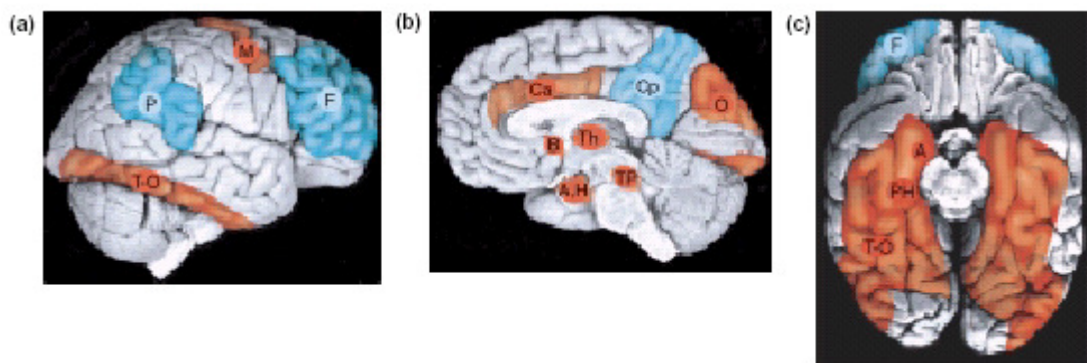
presentano un più basso rCBF (Maquet, 2000). Da cinque studi (Braun e coll., 1997; Hofle e coll., 1997; Maquet e coll., 1997; Andersson e coll., 1998; Kajimura e coll., 1999), si può osservare come le aree che presentano una bassa distribuzione regionale del CBF durante il SWS siano il tronco cerebrale (tegmento mesencefalico e pontino), il talamo, l'encefalo basale, il ganglio basale, il cervelletlo e alcune aree corticali, come quella frontale, parietale e medio-temporale (Fig. 4).



**Figura 4.** Riproduzione delle aree cerebrali deattivate durante il SWS adattata ai cambiamenti del CBF (Kajimura e coll., 1999).

Al contrario del SWS, il sonno REM è caratterizzato da un'intensa attività neuronale (Jones, 1990; Steriade e coll., 1990) e, di conseguenza, da elevata richiesta

energetica (Maquet e coll., 1990) e da un aumento del flusso ematico (Madsen e coll., 1991; Madsen e Vorstrup, 1991; Franzini, 1992). Da tre studi, che descrivono la neuroanatomia funzionale del sonno REM (Maquet e coll., 1996; Braun e coll., 1997; Nofzinger e coll., 1997), si può osservare l'attivazione del tegmento medio-pontino, dei nuclei talamici, delle strutture limbiche e paralimbiche e della corteccia posteriore e, inoltre, la deattivazione della corteccia frontale e parietale (Fig. 6).



**Figura 6.** Rappresentazione schematica dei relativi aumenti (regioni colorate in rosso) e decrementi (regioni colorate in blu) di attività neuronale durante il sonno REM. (a) vista laterale; (b) vista mediale; (c) vista ventrale. A, H, amigdala e ipotalamo; B, encefalo basale; Ca, giro cingolato anteriore; Cp, giro cingolato posteriore e precuneo; F, corteccia prefrontale; M, corteccia motoria; P, corteccia parietale; PH, giro paraippocampale; O, corteccia occipitale-laterale; Th, talamo; T-O, corteccia extrastriata temporo-occipitale; TP, tegmento pontino (Maquet e coll., 1996; Braun e coll., 1997; Nofzinger e coll., 1997; Maquet e coll., 2000).

Maquet e coll. (2000) furono interessati dall'attivazione bilaterale dell'amigdala durante il sonno REM. Infatti, le aree corticali che erano attivate durante il sonno

REM ricevono numerose proiezioni dall'amigdala, mentre le aree deattivate sono prive di tali afferenze (Amaral e Price, 1984; Amaral e coll., 1992; Aggleton, 1993).

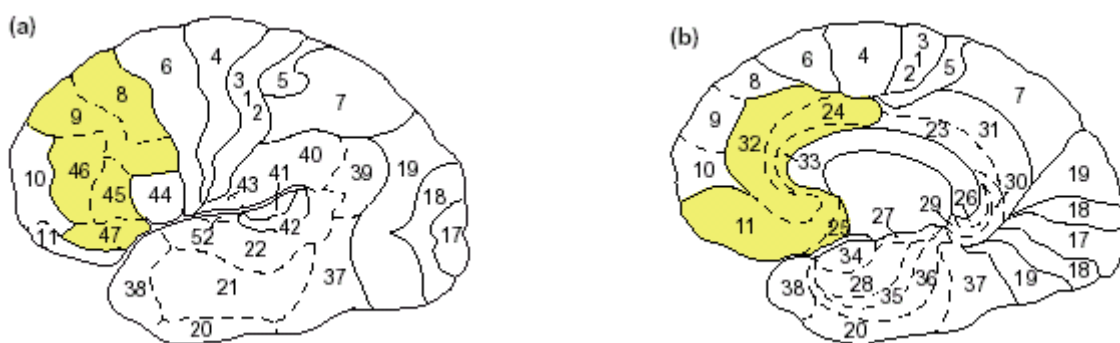
Questo suggerì che l'amigdala potrebbe modulare l'attività corticale durante il sonno REM. Inoltre, altri studi di *neuroimaging* mostrarono l'attivazione dell'ippocampo con (Nofzinger e coll., 1997) o senza (Braun e coll., 1997) l'attivazione simultanea dell'amigdala. Questo significa che il sonno REM è caratterizzato dall'attivazione dell'intero sistema limbico e non solamente dall'iperattività dell'amigdala (Maquet e coll., 2000). Inoltre, sia l'amigdala che l'ippocampo sono strutture impiegate nei sistemi della memoria (Bechara e coll., 1995). Infatti, molti autori hanno esaminato la relazione tra sonno REM e processi mnestici (Buzsaki e coll., 1994; Smith, 1995; Stickgold, 1999) mostrando come la privazione di sonno REM possa alterare l'apprendimento di compiti di discriminazione visiva (Karni e coll. 1994).

Maquet e coll. (1996), mediante studi di *neuroimaging* funzionale, mostrarono come la distribuzione di attività cerebrale durante il sonno REM fosse coerente con il successivo ricordo di sogni. I sogni ricordati dal risveglio in tale fase, avevano principalmente caratteristiche visive e uditive e, infatti, in alcuni studi di metabolismo del glucosio (Maquet e coll., 1990) e di CBF (Madsen e coll., 1991; Braun e coll., 1997) si osservò un incremento di attività nelle aree temporo-occipitali. L'aspetto emozionale dei sogni potrebbe essere legato all'alta attività del sistema limbico, specialmente all'attivazione dell'amigdala (Maquet e Phillips, 1998). La relativa ipoattività della corteccia prefrontale spiegherebbe, invece, la mancanza di *insight*,

l'alterazione della percezione del tempo o, persino, la convinzione illusoria di essere svegli (Hobson e coll., 1998).

L'attività cerebrale regionale durante il sonno REM include anche la corteccia motoria. Durante tale fase del sonno l'atonia muscolare è normalmente indotta dalla formazione reticolare che inibisce i motoneuroni spinali (Lai e Siegel, 1999).

Come sopra, Hobson e coll. (1998) parlarono dell'ipoattività della corteccia prefrontale durante il sonno REM e, studi di PET, hanno osservato come la corteccia prefrontale tende a disattivarsi sempre di più con l'approfondirsi del sonno non-REM (Hofle e coll., 1997) e che tale disattivazione si mantiene, quindi, anche nella transizione dal sonno non-REM a quello REM (Maquet e coll., 1996). Tuttavia, con l'insorgere del sonno REM, vi è una riattivazione delle porzioni ventromediali (Fig. 7b) e limbiche della corteccia prefrontale, come il cingolato anteriore e le parti caudale-orbitale e mediale della corteccia prefrontale (Braun e coll., 1997), ma la corteccia prefrontale dorsolaterale (Fig. 7a) rimane deattivata.



**Figura 7.** Locazione approssimativa delle aree di Brodman (colorate in giallo) che formano (a) la corteccia prefrontale dorsolaterale (è mostrata la superficie dorsale dell'emisfero sinistro) e (b) la corteccia prefrontale ventromediale (è mostrato il piano mediale tagliato dell'emisfero destro) (Elliott, 1969).

La deattivazione della corteccia prefrontale dorsolaterale è legata al fatto che, all'inizio della fase REM, vi è l'attivazione acetilcolinergica a partire dalla formazione reticolare pontina (Woolf e coll., 1989) che inibisce la corteccia prefrontale dorsolaterale. In ogni modo, ulteriori studi hanno osservato come l'attività della corteccia prefrontale dorsolaterale dipenda anche da altri neurotrasmettitori legati alle vie cortico-corticali (Muzur e coll., 2002).

Recenti studi hanno posto l'accento sul ruolo del sonno non-REM nel mantenimento delle funzioni cognitive che si ritrovano normalmente nella veglia (Nofzinger e coll., 2002). In relazione a ciò, Nofzinger e coll. (2002) hanno eseguito uno studio su 14 soggetti, usando la PET, per determinare il metabolismo regionale del glucosio (con una migliore risoluzione spaziale se confrontato con il rCBF) nel sonno non-REM confrontandolo con la veglia. I risultati riportarono dei decrementi significativi del metabolismo regionale dalla veglia al sonno non-REM, nella corteccia prefrontale dorsolaterale (che include le aree di Brodmann 45, 46, 47, 8, 9 - Fig. 7a) e ventrolaterale (aree di Brodmann 11, 47- Fig. 7), nelle regioni che includono il giro angolare e quello sopramarginale (aree di Brodmann 39, 40 - Fig. 7a), nella corteccia associativa temporale laterale (aree di Brodmann 21, 20 - Fig. 7a), nella corteccia primaria e secondaria visiva (area di Brodmann 17, 18 - Fig. 7); mentre non sono stati trovati dei decrementi significativi del metabolismo regionale dalla veglia al sonno non-REM, nel tronco cerebrale, nelle strutture primarie limbiche, come l'amigdala, l'ippocampo e la corteccia cingolata, nelle strutture paralimbiche, come la corteccia orbitofrontale, l'insula, il polo temporale e la

corteccia paraippocampale, nella corteccia motoria primaria e sensoriale primaria (Muzur e coll., 2002). Gli stessi autori hanno invece osservato degli incrementi significativi del metabolismo del glucosio dalla veglia al sonno non-REM nell'area associativa visiva 19 (area di Brodmann - Fig. 7), nella corteccia parietale superiore destra (area 7 di Brodmann - Fig. 7), nel lobo temporale mediale, quali ippocampo e amigdala, nell'ipotalamo, nell'encefalo basale e nella formazione reticolare pontina. Sono quest'ultimi dati che confermano l'ipotesi che il sonno non-REM gioca un ruolo importante nelle totali funzioni cognitive (Muzur e coll., 2002). Inoltre, le strutture cerebrali che mostrano un incremento del metabolismo nel sonno non-REM sono coerenti con gli studi sugli animali che dimostrano come l'ipotalamo e l'encefalo basale partecipano nella generazione e nel mantenimento del sonno non-REM (Muzur e coll., 2002).



## - CAPITOLO 3 -

### LA RICERCA

#### 3.1 Introduzione

Negli ultimi anni, per esplorare le dinamiche cerebrali del sonno umano, sono state usate diverse tecniche di *neuroimaging*, tra le quali, EEG dell'intero scalpo (Finelli e coll., 2001), potenziali evento-correlati (o *event-related potentials*; Bastuji e coll., 1999), magnetoencefalografia (o *magnetoencephalography*, MEG; Simon e coll., 2000), spettroscopia prossima all'infrarosso (o *Near Infrared Spectroscopy*, NIRS; Spielman e coll., 2000), tomografia ad emissione di fotone singolo (o *Single Photon Emission Tomography*, SPECT; Smith e coll., 2002), tomografia ad emissione di positroni (o *Positron Emission Tomography*, PET; Maquet, 2000) e risonanza magnetica funzionale (o *functional Magnetic Resonance Imaging*, fMRI; Maquet e coll., 2003). Ognuna di queste tecniche si basa su precisi segnali differenti di funzionamento cerebrale ed è caratterizzata da costi e benefici, specialmente in termini di risoluzione spaziale e temporale.

Di recente introduzione, nell'ambito delle neuroscienze cognitive, è stata la Stimolazione Magnetica Transcranica (TMS) (Walsh e Cowey, 2000). Infatti, l'EEG e l'EMG, ad esempio, anche se rilevano l'attività neuronale durante *performance* cognitive con una buona risoluzione temporale, non identificano esattamente il punto preciso del cervello in cui avviene l'attivazione neuronale. Contrariamente, mentre la PET e la fMRI hanno una buona risoluzione spaziale delle aree del cervello coinvolte in compiti che richiedono determinate *performance* cognitive, non possiedono un'elevata risoluzione temporale. La TMS sembra avere una buona risoluzione spaziale che temporale (cfr. cap. 1, par. 3.2). Tale metodica, oltre a numerose applicazioni, consente anche la valutazione raffinata e non invasiva dei meccanismi inibitori ed eccitatori corticali, ha aperto una nuova "finestra" nella corteccia motoria consentendo, inoltre, a molti studiosi, di investigare i disturbi neurologici associati o causati da anomalie dell'eccitabilità della corteccia motoria (Rossini e coll., 1999) (cfr. cap.1, par. 3.3).

Malgrado l'impiego diffuso di tale tecnica nell'ambito della ricerca sul cervello (Hallett, 2000), la sua applicazione sul sonno è limitata dal fatto che, la somministrazione di un singolo stimolo magnetico soprasoglia, sveglia il soggetto, o alleggerisce il suo sonno (Stalder e coll., 1995). L'acquisizione, quindi, delle risposte muscolari agli impulsi magnetici (da 6 a 12 prove) sottoforma di MEP (potenziali evocati motori), riflettendo l'eccitabilità cerebrale in un determinato stadio del sonno, sembra essere incompatibile con le peculiarità intrinseche del sonno stesso. Tuttavia, recentemente è stato dimostrato, mediante studi di PET, che il ripristino del *pattern*

d'attività regionale cerebrale proprio dello stato di veglia, avviene dopo solo venti minuti dal risveglio nelle regioni corticali anteriori (Balkin e coll., 2002) e dopo trenta minuti o più misurando la velocità del flusso ematico (Hajak e coll., 1994; Klingelhofer e coll., 1995). Queste osservazioni confermano, quindi, la possibilità di valutare e confrontare la fisiologia corticale pre-veglia al risveglio da differenti stadi del sonno (Gordon e coll., 1982; Bertini e coll., 1984). All'interno di questa cornice, è possibile impiegare la TMS per mettere a confronto la fisiologia corticale dei diversi stadi del sonno. Infatti, grazie ad una serie di studi, si è osservato che il sonno non è solamente un fenomeno globale che si estende all'insieme del cervello, ma esso possiede anche aspetti locali (Krueger e coll., 1993; Kattler e coll., 1994) (cfr. cap. 2, par. 1).

Da studi di TMS si può osservare come il paradigma comunemente utilizzato per valutare l'eccitabilità motoria corticale sia la tecnica del “doppio stimolo” (o *paired-pulse technique*), la quale prevede l'erogazione di uno stimolo condizionante (SC) sottosoglia e uno stimolo test (ST) soprasoglia (Chen e coll., 1998b; Ziemann, 1999) (cfr. cap.1, par. 3.1). La tecnica del “doppio stimolo” intracorticale, o chiamato cortico-corticale (o *cortico-cortical paired-pulse technique*) (Kujirai e coll., 1993), prevede, invece, l'erogazione di due stimoli magnetici ravvicinati nel tempo nella stessa regione corticale mediante un solo *coil*. Lo stimolo condizionante (SC), modifica la risposta allo stimolo test (ST). Gli effetti della tecnica del “doppio stimolo” intracorticale dipendono da vari fattori, quali: l'intensità dello stimolo condizionante (SC), l'intervallo tra stimoli (o ISI) e l'intensità dello stimolo test (ST).

L'influenza dell'intensità dello SC e dello ST è dovuta al fatto che vengono ristabiliti diversi circuiti da determinate intensità di stimolazione (Pascual-Leone e coll., 1998). Infatti, come ampiamente descritto nel paragrafo 3.1 del primo capitolo, l'intensità della stimolazione e lo stato del muscolo, attivo o a riposo, modulano gli effetti eccitatori ed inibitori sui MEP e la quantità dell'inibizione è inversamente proporzionale all'ampiezza dello stimolo condizionante. Per ISI minori di 5 ms, con il soggetto a riposo, lo stimolo condizionante sottosoglia (80% della soglia attiva) inibisce lo stimolo test soprasoglia (120% della soglia) e tale inibizione è meno evidente nel caso di una contrazione volontaria con lo stimolo condizionante al 90% della soglia attiva motoria (Ziemann e coll., 1996d; Di Lazzaro e coll., 1998). Infatti, l'inibizione intracorticale (ICI) è stata identificata a brevi intervalli interstimolo (ISI di 1-5 ms), dato che lo stimolo condizionante eccita circuiti inibitori GABAergici intracorticali che provocano una riduzione d'ampiezza del MEP evocato dallo stimolo test, mentre la facilitazione intracorticale (ICF) è stata osservata a più lunghi ISI (7-20 ms), infatti, lo stimolo condizionante eccita circuiti intracorticali più lenti, a significato facilitatorio, capaci d'aumentare l'ampiezza del MEP (Kujirai e coll., 1993).

Lo scopo del presente studio è stato quello di stimare l'ICI e l'ICF al risveglio dal sonno REM e dal sonno ad onde lente (SWS). Inoltre, è stata valutata anche l'eccitabilità corticospinale, confrontando le soglie motorie a riposo e l'ampiezza dei MEP agli stimoli soprasoglia.

## 3.2 Metodo

### 3.2.1 Soggetti

Dieci volontari di sesso femminile, d'età compresa fra i 20 ed i 26 anni (età media=23.30; S.E.=0.58), sono stati selezionati da una popolazione di studenti universitari, per partecipare allo studio. Un'intervista clinica ha consentito di escludere, nei soggetti e nella loro storia familiare, la presenza d'epilessia, nonché d'altri disturbi di natura neurologica, psichiatrica e medica. Inoltre, al fine d'evitare soglie motorie troppo elevate, attraverso una breve sessione di registrazione, è stata accertata la presenza di una buona rappresentazione corticale motoria del muscolo *target*, Abduttore Breve del V dito (*Abductor Digiti Minimi*, ADM).

Per essere inclusi nella ricerca sono stati presi in considerazione i seguenti ulteriori requisiti: regolare *pattern* sonno-veglia, normale durata del sonno, nessuna abitudine a sonnellini durante il giorno, assenza di sonnolenza diurna ed, infine, nessun disturbo del sonno, come accertato attraverso un diario del sonno settimanale. Ai partecipanti è stato richiesto di evitare pisolini durante il giorno per l'intera durata dell'esperimento e la loro collaborazione è stata verificata attraverso un attigrafo (AMI *motion logger* 16 K).

Sono stati, inoltre, ottenuti l'approvazione del protocollo da parte del Comitato Etico dell'Ospedale Fatebenefratelli, nonché il consenso informato dei volontari.

### 3.2.2 Materiali

#### *Stimolazione Magnetica Transcranica*

E' stato utilizzato uno stimolatore Magstim 200 Mono Pulse, connesso ad un modulo Bistim ed un *coil* a farfalla, con diametro pari a 9 cm (Magstim Company Limited, UK). L'intensità massima del campo magnetico, prodotto dal suddetto *coil*, ha raggiunto il valore di 2.0 Tesla.

I potenziali evocati motori (MEP) sono stati registrati dal muscolo *Abductor Digiti Minimi* (ADM) di entrambe le mani, attraverso due elettrodi a coppa d'argento-cloruro d'argento (Ag-AgCl), del diametro di 9 mm. L'elettrodo attivo è stato posizionato sul muscolo ADM, mentre, quello di riferimento, sulla giuntura metacarpofalangeale del dito mignolo, il tutto dopo aver pulito la pelle e aver applicato il gel conduttivo. I MEP sono stati registrati secondo le procedure standard (Rossini e coll., 1994; 1999), ed analizzati attraverso un *software* per segnali elettromiografici (Myto, EBNeuro, Italy).

#### *Registrazioni polisonnografiche*

Per le registrazioni poligrafiche è stato utilizzato un poligrafo Esaote Biomedica VEGA 24, con una velocità di scorrimento della carta di 10 mm/s. Per i segnali EEG

si è ricorso a filtri passa-alto, con una costante di tempo di 0.3 s, e filtri passa-basso a 30 Hz. Quattro derivazioni EEG unipolari (Fz-A1, Cz-A1, Pz-A1, Oz-A1) sono state posizionate sullo scalpo, secondo il sistema internazionale 10-20. L'EMG sottomentoniero è stato registrato con una costante di tempo di 0.03 s, mentre i movimenti oculari bipolari, orizzontali e verticali, con una costante di tempo pari ad 1 s. L'EOG bipolare orizzontale è stato registrato con elettrodi collocati a circa 1 cm dai lati mediale e laterale dell'occhio dominante mentre, per la registrazione dell'EOG bipolare verticale, gli elettrodi sono stati posizionati a circa 3 cm al di sopra e al di sotto della pupilla dell'occhio destro. I valori d'impedenza sono stati tenuti al di sotto di 5 Kohm.

### *3.2.3 Disegno e procedura*

#### *Stimolazione Magnetica Transcranica*

I soggetti sono stati testati mentre stavano adagiati sul letto, in un ambiente con luce fioca, pienamente rilassati, con gli occhi aperti, fissando un punto sulla parete e con la minima interazione verbale.

In ciascun esperimento, in accordo con la tecnica del “doppio stimolo” intracorticale (Kujirai e coll., 1993), sono stati elicitati due stimoli magnetici (SC e

ST) ravvicinati nel tempo sulla corteccia motoria sinistra mediante un singolo *coil*. L'intensità dello stimolo condizionante è stato fissato al 70% della soglia motoria individuale a riposo, mentre l'intensità dello stimolo test, al 130% di tale soglia. La soglia motoria è stata definita come la più bassa intensità di stimolo capace d'elicitare nel muscolo *target* almeno tre MEP d'ampiezza pari a 100  $\mu$ V, su un totale di 6 stimolazioni consecutive (Rossini e coll., 1994).

Pertanto, il primo passo di ciascun esperimento consisteva sempre nella definizione della soglia motoria.

L'individuazione dell'*hot spot*, ossia dell'area dello scalpo in cui è più facile provocare MEP di maggiore ampiezza e minor latenza, è avvenuto posizionando il *coil* approssimativamente in corrispondenza del solco centrale e facendogli poi compiere dei piccoli spostamenti di circa 1 cm alla volta. I *coil* sono stati posizionati tangenzialmente allo scalpo ed orientati secondo una direzione antero-posteriore, a 45 gradi rispetto all'asse mediosagittale della testa dei soggetti. In questo modo, la corrente indotta nel cervello ha fluito perpendicolarmente all'orientamento del solco centrale, permettendo di registrare più basse soglie motorie (Brasil-Neto e coll., 1992; Maeda e coll., 2002).

I valori di base dei MEP non condizionati sono stati misurati attraverso la somministrazione di una serie indipendente di stimoli test, rilasciati ad un'intensità pari al 130% della soglia motoria individuale.

Lo stimolo condizionante è stato rilasciato in corrispondenza di sei differenti intervalli interstimolo (ISI): 1, 3, 7, 10, 12, 15 msec. Ogni sessione sperimentale è



stata costituita, quindi, da 7 blocchi (6 blocchi condizionati + una *baseline*) con 8 stimoli applicati in ciascun blocco e, inoltre, la sequenza è stata bilanciata tra i soggetti.

Mentre la definizione dell'*hot spot* è stata effettuata durante la valutazione pre-sonno, la definizione della soglia motoria individuale, per ciascuna condizione (veglia pre-sonno, SWS e sonno REM), è stata effettuata durante la prima notte trascorsa in laboratorio (notte di adattamento). In tal modo, ciascuna sessione si è protratta per non più di 10 minuti, garantendo il mantenimento del *pattern* caratteristico dello stadio del sonno, dal quale i soggetti sono stati risvegliati.

### *Protocollo dei risvegli*

Tutti i soggetti della ricerca hanno dormito per quattro notti consecutive in una stanza insonorizzata e a temperatura controllata, presso il Laboratorio del Sonno del Dipartimento di Psicologia, dell'Università "La Sapienza" di Roma.

La prima notte di adattamento ha consentito ai soggetti di familiarizzare con il *setting* sperimentale e ai ricercatori di procedere alla definizione delle soglie motorie al risveglio dai differenti stadi del sonno considerati. Più precisamente, i valori di soglia sono stati valutati durante la veglia pre-sonno (cinque minuti prima dello

spegnimento delle luci), al risveglio dallo stadio SWS e, infine, al risveglio da stadio REM.

Durante la seconda notte, considerata come *baseline*, è stato concesso ai soggetti un sonno indisturbato.

Durante la terza notte i soggetti hanno partecipato ad un diverso studio di TMS incentrato sulla valutazione del fenomeno dell'inibizione interemisferica o transcallosale durante il risveglio da stadio 2 e da stadio REM.

Anche durante la quarta notte, infine, i soggetti sono stati svegliati due volte: dopo 5 minuti dal sonno ad onde lente (SWS) ininterrotto del primo ciclo di sonno e dopo 5 minuti dal sonno REM, ininterrotto, del secondo ciclo di sonno.

Ciascuna notte è terminata dopo 7.5 ore di sonno accumulato. Immediatamente dopo il risveglio, due sperimentatori sono entrati nella stanza del sonno e, in ridotte condizioni di luce, hanno sottoposto i soggetti alla valutazione della soglia motoria, durante la prima notte e, della facilitazione e inibizione intracorticale durante la quarta notte. Per facilitare il posizionamento del *coil* al momento del risveglio, la testa dei soggetti è stata collocata su uno speciale cuscino. In più, durante la veglia pre-sonno, si è proceduto a delineare con un pennarello ad inchiostro fosforescente le aree da stimolare.

### 3.2.4 Analisi dei dati

Per garantire che tutti i risvegli avvenissero effettivamente dagli stadi del sonno prestabiliti, le registrazioni polisonnografiche sono state siglate secondo i criteri standard di Rechtschaffen e Kales (1968).

Per valutare l'ampiezza dei MEP, è stata presa in considerazione la distanza tra *baseline* e primo picco riproducibile, nonché quella tra i due picchi principali di opposta polarità.

Le soglie motorie sono state messe a confronto mediante analisi della varianza per misure ripetute ad una via (ANOVA) nelle condizioni di veglia pre-sonno, sonno REM e SWS. La stessa ANOVA è stata eseguita sull'ampiezza dei MEP relativa alle risposte incondizionate (nelle quali è stato erogato il solo impulso test) per confrontare l'eccitabilità corticospinale nelle varie condizioni.

Le variazioni osservate nell'ampiezza dei MEP, come conseguenza dell'erogazione dello stimolo condizionante, sono state espresse in termini di un rapporto tra risposte condizionate (precedute da un impulso condizionante) e risposte incondizionate (conseguenti al rilascio del solo stimolo test). La significatività dei cambiamenti d'ampiezza osservati è stata valutata attraverso il test statistico t di Student, ad un campione e a due code, il cui risultato avrebbe dovuto confutare l'ipotesi nulla di un rapporto medio di popolazione pari ad 1, secondo la quale non esisterebbe alcuna differenza significativa tra risposte condizionate e non condizionate.

I cambiamenti d'ampiezza dei MEP sono stati, inoltre, considerati come una variabile dipendente di un'analisi della varianza per misure ripetute a due vie (ANOVA), i cui fattori sono stati l'ISI, a sei livelli (1, 3, 7, 10, 12, 15 msec) e lo stato del sonno, a tre livelli (veglia pre-sonno, SWS, REM). Quando l'interazione è risultata significativa, le medie sono state confrontate attraverso test *post-hoc* di Fisher.

### 3.3 Risultati

Come riportato in Tabella 1, la notte *baseline* (seconda notte, durante la quale i soggetti dormivano un sonno indisturbato) e notte sperimentale (quarta notte, durante la quale i soggetti venivano risvegliati e sottoposti a TMS) presentano misure polisonnografiche simili: i valori polisonnografici non risultano statisticamente differenti tra le due notti messe a confronto. I risvegli notturni sono avvenuti rispettivamente dopo 6.30 minuti (SE=0.91) di sonno SWS, durante il primo ciclo di sonno e dopo 5.65 minuti (SE=0.42) di sonno REM, durante il secondo ciclo di sonno.

Il valore medio di soglia motoria è risultato pari al 36.56% (SE=1.90) dell'*output* massimo dello stimolatore magnetico per la condizione di veglia, 36.00% (SE=1.38) per la condizione REM e 39.33% per la condizione SWS. Queste medie erano significativamente differenti ( $F_{2,18}=4.08$ ;  $p=0.04$ ), con una più alta soglia motoria per il sonno ad onde lente (SWS) rispetto alla veglia ( $p=0.04$ ) e rispetto al REM ( $p=0.02$ ), mentre la differenza tra veglia e sonno REM non è risultata significativa ( $p=0.66$ ).

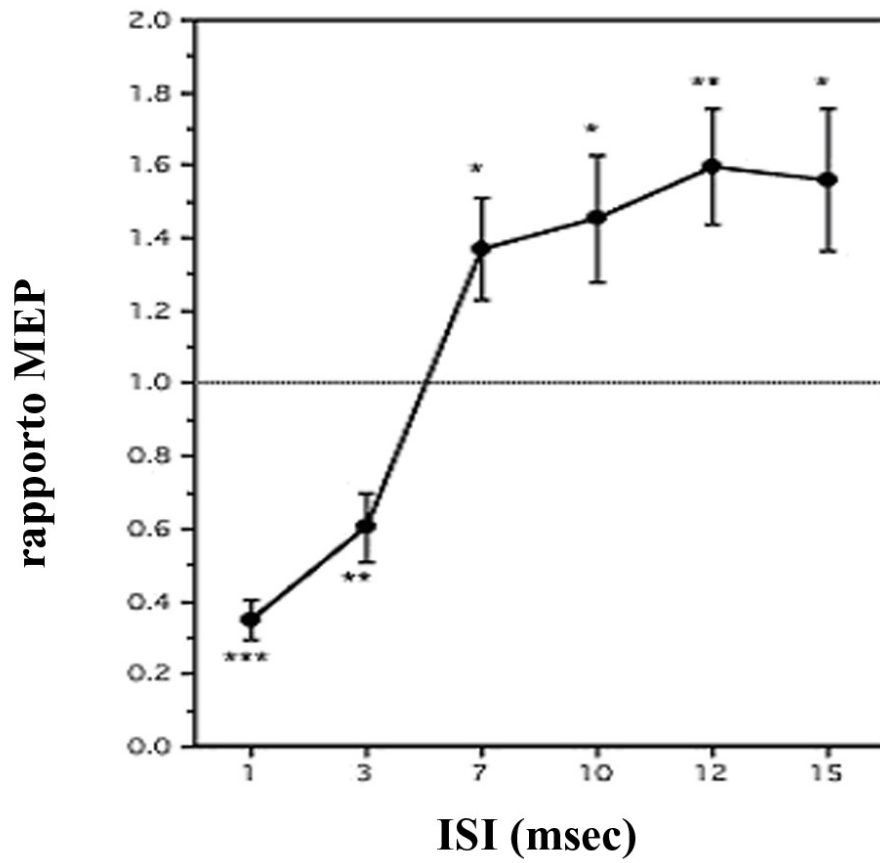
L'analisi dell'ampiezza dei MEP, relativi alle risposte non condizionate (prodotte dal rilascio del solo stimolo test), è risultata solo prossima alla significatività statistica ( $F_{2,18}=3.03$ ;  $p=0.07$ ), mostrando comunque un significativo *trend* lineare dalla veglia al sonno REM [veglia=1018.20  $\mu V$  (SE=167.04), SWS=954.32  $\mu V$  (SE=244.97), REM=706.00  $\mu V$  (SE=127.71);  $F_{1,9}=12.33$ ;  $p=0.007$ ], spiegato dal significativo decremento d'ampiezza nel sonno REM rispetto alla veglia ( $p=0.03$ ).

**Tabella 1.** Valori medi, deviazioni standard (riportate tra parentesi) e risultati dell'analisi della varianza relativi a durata e latenza (in minuti) degli stadi del sonno nella notte *baseline* (BSL) ed in quella sperimentale (EXP). SWS = sonno ad onde lente (stadi 3 e 4); VIS = veglia intra-sonno; IES = indice di efficienza del sonno (=tempo totale di sonno/tempo totale trascorso a letto x 100); TTS = tempo totale di sonno; TTL = tempo totale trascorso a letto.

<b>Variabili</b>	<b>BSL</b>	<b>EXP</b>	<b>F(1,9)</b>	<b>p</b>
<b>Latenza sonno</b>	14.00 (3.25)	14.30 (2.86)	0.01	0.93
<b>Latenza REM</b>	128.20 (20.82)	111.45 (13.97)	0.71	0.42
<b>Stadio 1</b>	35.60 (11.64)	36.25 (8.65)	0.01	0.92
<b>Stadio 2</b>	270.15 (11.24)	265.75 (11.69)	0.13	0.73
<b>SWS</b>	65.65 (13.03)	57.45 (8.69)	2.31	0.16
<b>REM</b>	102.35 (6.24)	115.30 (6.64)	3.58	0.09
<b>VIS</b>	66.40 (13.98)	52.10 (7.74)	0.71	0.42
<b>IES%</b>	87.52 (2.47)	88.55 (2.22)	0.09	0.77
<b>TTS</b>	473.75 (10.11)	474.75 (13.45)	0.01	0.96
<b>TTL</b>	545.45 (20.07)	537.10 (12.59)	0.10	0.76

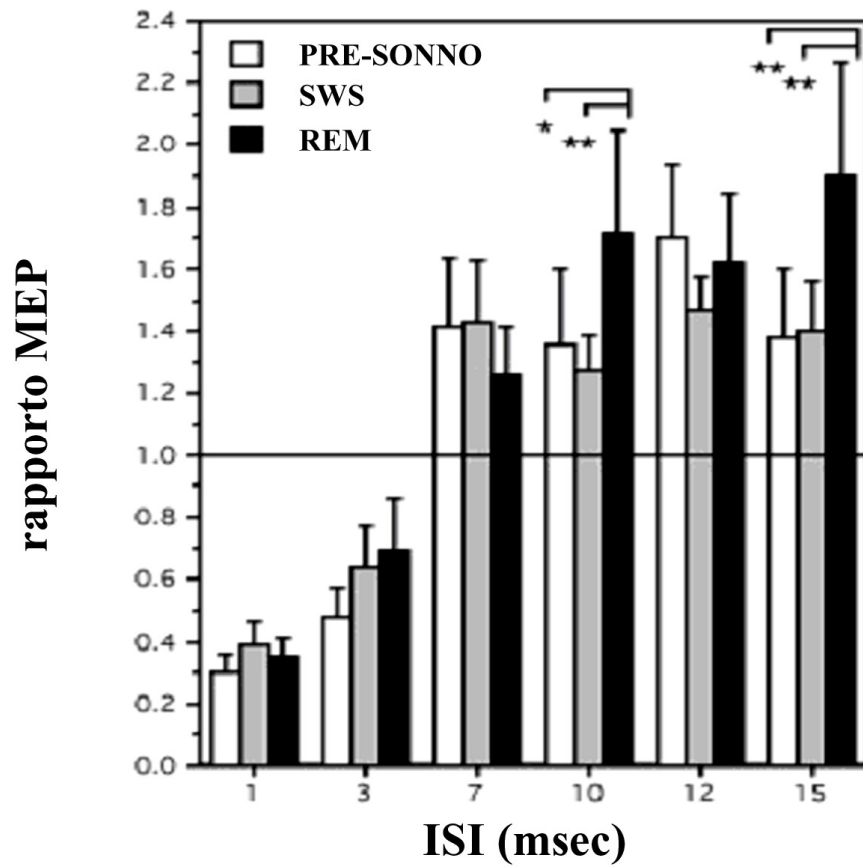
L'ANOVA a due vie (ISI x Stadio del sonno) sui cambiamenti dei MEP, espressi come rapporto tra risposte condizionate e non condizionate, ha mostrato un significativo effetto principale del fattore ISI ( $F_{5,45}=27.23$ ;  $p<0.00000001$ ): è stato identificato un'inibizione MEP ad ISI più brevi (da 1 a 3 ms) e una facilitazione MEP a più lunghi ISI (7, 10, 12, 15 ms). Come mostra la Figura 8, la valutazione della loro significatività, per poter confutare l'ipotesi nulla di un rapporto medio di popolazione pari ad 1 (secondo la quale non esisterebbe alcuna differenza significativa tra risposte condizionate e non condizionate), ha indicato dei significativi cambiamenti ad ogni ISI considerato (1 ms:  $t_9=-11.84$ ,  $p=0.0001$ ; 3 ms:  $t_9=-4.08$ ,  $p=0.003$ ; 7 ms:  $t_9=2.66$ ,  $p=0.03$ ; 10 ms:  $t_9=2.63$ ,  $p=0.03$ ; 12 ms:  $t_9=3.79$ ,  $p=0.004$ ; 15 ms:  $t_9=2.86$ ,  $p=0.02$ ).

La significatività dell'interazione tra i fattori ISI e stato del sonno ( $F_{10,90}=27.23$ ;  $p=0.04$ ), ha suggerito la presenza di cambiamenti della facilitazione intracorticale (ICF) e dell'inibizione intracorticale (ICI) durante le diverse condizioni. Infatti, come è indicato nella Figura 9, i test *post-hoc* hanno mostrato che il sonno REM è associato ad una più forte facilitazione rispetto alla veglia, precisamente a 10 e 15 ms di ISI ( $p=0.03$  e  $p=0.002$ ) e rispetto al SWS, a 10 e 15 ms di ISI ( $p=0.009$  e  $p=0.002$ ).



**Figura 8.** Rappresentazione grafica dell'effetto principale del fattore ISI sull'ampiezza dei MEP, quest'ultima espressa come rapporto tra risposte condizionate e non condizionate. (\*  $p \leq 0.05$ ; \*\*  $p \leq 0.01$ ; \*\*\*  $p \leq 0.001$ ).





**Figura 9.** Rappresentazione grafica degli effetti dell'interazione fra i fattori ISI e stato del sonno sull'ampiezza dei MEP e, quindi, sulla facilitazione e inibizione intracorticale durante le diverse condizioni. (\*  $p \leq 0.05$ ; \*\*  $p \leq 0.01$ ).

### 3.4 Discussione

Come è stato osservato da Kujirai e collaboratori (1993), anche nel presente studio, indipendentemente dagli stadi del sonno, sono stati rilevati dei forti effetti di inibizione e facilitazione corticale. Tali effetti avevano una dimensione che variava dal 40% fino al 65% della *baseline* d'ampiezza dei MEP, rispettivamente negli intervalli interstimoli (ISI) di 1-3 e 7-15 ms. Le soglie motorie erano più alte nella condizione di SWS, senza un'apprezzabile differenza tra le condizioni di sonno REM e veglia, mentre l'ampiezza MEP agli stimoli non condizionati diminuiva in REM rispetto alle altre condizioni. Il sonno REM ha mostrato un significativo incremento di facilitazione intracorticale (ICF) a 10 e 15 ms di ISI, mentre l'inibizione intracorticale (ICI) non era influenzata dallo stadio del sonno.

Sebbene l'atonia muscolare sia un'importante caratteristica del sonno REM, dovuta ad una tonica inibizione dei motoneuroni spinali a partenza dalla regione del tronco cerebrale (Morales e Chase, 1981), è stato dimostrato che impulsi TMS erogati sulla corteccia motoria dell'uomo, evocano risposte muscolari sia durante il sonno ad onde lente (SWS), sia durante il sonno REM (Stalder e coll., 1995; Hess e coll., 1987; Grosse e coll., 2002). Infatti, come descritto nel paragrafo 5.1 del primo capitolo, durante il sonno REM la corteccia motoria è ipereccitata e l'incremento dell'eccitabilità è d'origine presinaptica, dovuta ad un'azione facilitante dei circuiti intracorticali modulanti la via motoria (Hess e coll., 1987). Questo, renderebbe più suscettibile l'area motoria allo stimolo magnetico e giustificerebbe il superamento

dell'inibizione spinale tipica di tale fase (Hess e coll., 1987). A conferma di ciò, Rosler e coll. (1994) hanno anche osservato come fosse possibile evocare con TMS delle risposte muscolari durante la cataplessia (cfr., cap. 1, par. 5.1).

Tuttavia, tutti gli studi sul sonno, interessati a valutare l'eccitabilità corticospinale, erogavano uno, o comunque pochi impulsi magnetici ai soggetti che si trovavano nei vari stadi del sonno. Inoltre, questi studi hanno utilizzato dei metodi non-standard per la definizione della soglia motoria e non hanno mai applicato il paradigma del "doppio stimolo" per valutare l'eccitabilità intracorticale, tutto ciò per il fatto che il numero e il tipo di stimoli erogati non consentivano di mantenere lo stesso stadio del sonno. Persino l'alta variabilità dell'ampiezza MEP, durante il sonno rispetto alla veglia, riportate nei precedenti studi (Hess e coll., 1987; Fish e coll., 1991; Stalder e coll., 1995), potrebbe riflettere il *bias* tra numeri di stimoli richiesti e cambiamenti della qualità del sonno indotti dalla TMS. Infine, in questi studi, i soggetti sono stati privati del sonno per permettere che stimolazioni TMS durante gli stadi del sonno non risvegliassero frequentemente i soggetti.

I risultati del presente studio, mostrano una dissociazione tra eccitabilità corticospinale, misurata dalla soglia motoria e la stessa, misurata mediante l'ampiezza MEP di risposte evocate da stimoli incondizionati: il sonno ad onde lente (SWS) è risultato caratterizzato da più alte soglie motorie e il sonno REM da più basse ampiezze MEP. E' stato osservato un decremento d'ampiezze MEP anche quando venivano erogati degli stimoli soprasoglia a 130% della soglia motoria durante lo stadio REM, rispetto alla veglia a riposo (Grosse e coll., 2002) e, inoltre,

l'ampiezza MEP del muscolo ADM ha mostrato una significativa riduzione sia nello stadio SWS che in REM con una stimolazione magnetica all'80-100% della potenza dello stimolatore (Stalder e coll., 1995). Grosse e coll. (2002) sono arrivati alla conclusione che l'attivazione del sistema corticospinale si riduce in tutti gli stadi del sonno, infatti, è stato osservato un aumento della soglia motoria, un appiattimento della curva "ampiezza MEP" e latenza MEP prolungata. (cfr. cap. 1, par. 5.1).

E' essenziale sottolineare che la soglia motoria e l'ampiezza MEP riflettono l'eccitabilità del sistema corticospinale, ma l'esatto *locus* dei cambiamenti d'eccitabilità lungo la via corticospinale non può essere determinata.

Sebbene soltanto a livello speculativo, l'aumento delle soglie nella condizione di SWS potrebbe essere legato al decremento d'attività metabolica della corteccia motoria durante questo stadio del sonno (Maquet, 2000 - cfr. cap. 2, par. 2) e all'incremento di attività ad onde lente EEG nelle aree centro-frontali (Ferrara e coll., 2002 - cfr. cap. 2, par. 1). Per quanto riguarda il decremento d'ampiezza MEP nella condizione di sonno REM, rispetto alla veglia ed al sonno ad onde lente (SWS), esso potrebbe essere dovuto a fattori più periferici, cioè, alle conseguenze dell'inibizione post-sinaptica dei motoneuroni spinali durante il sonno REM (Morales e Chase, 1981). In linea con questa interpretazione, è stata rilevata assenza del riflesso-H durante il sonno REM dell'uomo, un suo lieve decremento in ampiezza durante il sonno non-REM se confrontato con la veglia (Shimizu e coll., 1966) e, le registrazioni intracellulari nel gatto, hanno evidenziato assenza di cambiamenti

nell'attività dei motoneuroni spinali durante il sonno ad onde lente (SWS) (Morales e coll., 1983).

Tuttavia, se effettivamente i cambiamenti nelle soglie motorie o nell'ampiezza dei MEP in REM e in SWS sono dovuti esclusivamente all'inibizione spinale o corticospinale, o sono causati da meccanismi corticali, non può essere determinato dalle misure attualmente disponibili. D'altronde, le variazioni dei MEP indotte dal paradigma del “doppio stimolo” sono considerate di origine, corticale, senza il contributo di meccanismi sottocorticali o spinali (Ziemann, 2002).

Il principale risultato della presente ricerca è il fatto che il sonno REM sia associato ad una rilevante facilitazione a 10 e 15 ms di ISI, rispetto alla veglia pre-sonno e allo stadio SWS, mentre non sono state rilevate differenze ad ISI più brevi.

Questa dissociazione tra facilitazione e inibizione corticale, non è da definire sorprendente dal momento che ci sono diverse linee di evidenze che puntano a separare i vari meccanismi per la ICF e per l'ICI (Ziemann, 2002). Come hanno suggerito altri autori (Hess e coll., 1987; Fish e coll., 1991; Stalder e coll., 1995), un incremento di eccitabilità corticale durante il sonno REM può compensare l'inibizione spinale durante tale stadio. Anche gli studi PET, infatti, mostrano una significativa attivazione dell'area motoria primaria e supplementare, nei normali soggetti umani, durante il sonno REM (Maquet e coll., 2000; Schwartz e Maquet, 2002).

Ulteriori evidenze vengono da registrazioni extracellulari, le quali mostrano come sia la corteccia motoria, sia le aree motorie sottocorticali, sono attivate durante il sonno REM (Steriade e Hobson, 1976).

Infine, studi recenti, usando registrazioni intracellulari, relative a determinate tipi di cellule corticali del gatto durante il sonno, hanno mostrato, inaspettatamente, una forte attivazione di neuroni corticali durante lo stadio SWS e una più ampia attivazione durante il sonno REM (Steriade e coll., 2001), con un mantenimento e persino un incremento del livello di attivazione intracorticale neuronale (Timofeev e coll., 1996).

## CONCLUSIONI

Negli ultimi anni, l'introduzione delle nuove tecniche di *neuroimaging*, ha permesso un notevole accrescimento di conoscenze sulle dinamiche del funzionamento cerebrale. Tuttavia, l'estensione di queste tecniche alla psicofisiologia del sonno è stata spesso ritardata dalle specifiche condizioni in cui si verifica il sonno e dall'estesa durata dell'intero processo. Pertanto, solo negli ultimi anni sono stati pubblicati i primi studi di *neuroimaging* durante il sonno, scevri da limitazioni metodologiche.

Similmente, l'estensione allo studio del sonno, dell'utilizzo della TMS è stato limitato dalla somministrazione di pochi, e a volte non controllati, impulsi magnetici.

L'obiettivo principale del presente studio era quello di estendere al sonno la metodica d'indagine di stimolazione magnetica transcranica senza alterarne le caratteristiche intrinseche.

Il quadro dei risultati descritto nel paragrafo 3 del terzo capitolo, fornisce nuove conoscenze sulla fisiologia del sonno REM e del SWS, almeno per quanto riguarda il sistema motorio, ma, la coerenza dei risultati, permette soprattutto d'affermare che, mediante la somministrazione degli impulsi magnetici nei primi 10 minuti dopo il risveglio da una certa fase del sonno, si ottengono attendibili e valide informazioni sulla fisiologia dello stadio del sonno precedente al risveglio.

Una delle conseguenze di questo studio, è quello di indicare, all'interno della comunità scientifica della Psicofisiologia del Sonno, una nuova tecnica come potenziale metodica d'indagine della neurofisiologia corticale dell'uomo.



## Bibliografia

- ABRUZZESE G., TROMPETTO C., SCHIEPPATI M. (1996) The excitability of the human motor cortex increases during execution and mental imagination of sequential but not repetitive finger movements. *Exp. Brain Res.*, 111 (3): 465-472.
- ACHERMANN P., FINELLI L. A., BORBÉLY A. A. (2001) Unihemispheric enhancement of delta power in human frontal sleep EEG by prolonged wakefulness. *Brain Research*, 913: 220-223.
- AESCHBACH D., BORBÉLY A. A. (1993) All-night dynamics of the humans sleep EEG. *J. Sleep Res.*, 2: 70-81.
- AGGLETON J. P. (1993) The contribution of the amygdala to normal and abnormal emotional states. *Trends Neurosci.*, 16: 328-333.
- AHONEN J. P., JEKKONEN M., DASTIDAR P., MOLNAR G., HAKKINEN V. (1998) Cortical silent period evoked by transcranial magnetic stimulation in ischemic stroke. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.*, 109 (3): 224-229.
- ALDRICH M. S. (1992) Narcolepsy. *Neurology*, 42 (suppl. 6): 24-43.
- AMARAL D. G. e PRICE J. L. (1984) Amygdalo-cortical projections in the monkey (*Macaca fascicularis*). *J. Comp. Neurol.*, 230: 465-496.
- AMARAL D. G., PRICE J. L., PITKÄNEN A., CARMICHAEL S. T. (1992) *Anatomical organization of the primate amygdaloid complex*. In: "The Amygdala: Neurobiological Aspects of Emotion, Memory and Mental dysfunction", Aggleton J. P. (Ed.), Wiley-Liss, New York, 1-6.
- AMASSIAN V. E., CRACCO R. Q., MACCABEE P. J., RUDELL A., EBERLE L. (1989) Suppression of visual perception by magnetic coil stimulation of human occipital cortex. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.*, 74: 458- 462.
- AMZICA F., STERIADE M. (1997) The K-complex. Its slow (<1 Hz) rhythmicity and relation to delta waves. *Neurology*, 49: 952-959.
- ANDERSSON J. L. R., ONOE H., HETTA J., LIDSTROM K., VALIND S., LILJA A., SUNDIN A., FASTH K. J., WESTERBERG G., BROMAN J. E., WATANABE Y., LANGSTROM B. (1998) Brain networks affected by synchronized sleep visualized by positron emission tomography. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, 18: 701-715.

- ASHBRIDGE E., WALSH V., COWEY A. (1997) Temporal aspects of visual search studied by transcranial magnetic stimulation. *Neuropsychology*, 35: 1121-1131.
- BALKIN T.J., BRAUN A.R., WESENSTEN N.J. e coll. (2002) The process of awakening: a PET study of regional brain activity patterns mediating the re-establishment of alertness and consciousness. *Brain*, 125: 2308-2319.
- BARBUR J., WATSON J. D. G., FRACKOWIAK R. S. J., ZEKI S. M. (1993) Conscious visual perception without V1. *Brain*, 116: 1293-1302.
- BARKER A. T., JALINOUS R., FREESTON I. L. (1985) Non-invasive magnetic stimulation of human motor cortex. *Lancet*, 1 (8437): 1106-1107.
- BASTUJI H, GARCIA-LARREA L. (1999) Evoked potentials as a tool for the investigation of human sleep. *Sleep Med. Rev.*, 3: 23-45.
- BECHARA A., TRANEL D., DAMASIO H., ADOLPHS R., ROCKLAND C., DAMASCO A. R. (1995) Double dissociation of conditioning and declarative knowledge relative to the amigdala and hippocampus in humans. *Science*, 269: 1115-1118.
- BENCA R. M., OBERMEYER W. H., THISTED R. A., GILLIN J. C. (1992) Sleep and psychiatric disorders. A meta-analysis. *Arch. Gen. Psychiatry*, 49 (8): 651-668.
- BERARDELLI A., INGHILLERI M., CRUCCO G., FORNARELLI M., ACCORSERO N., MANFREDI M. (1988) Stimulation of motor tracts in multiple sclerosis. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*, 51 (5): 677-683.
- BERARDELLI A., RONA S., INGHILLERI M., MANFREDI M. (1996) Cortical inhibition in Parkinson's disease. A study with paired magnetic stimulation. *Brain*, 119: 71-77.
- BERTINI M., VIOLANI C., ZOCCOLOTTI P., ANTONELLI A., DI STEFANO L. (1984) Right cerebral activation in REM sleep: evidence from a unilateral tactile recognition test. *Psychophysiology*, 21: 418-423.
- BIZZI E. (1987) Motor control mechanisms. An overview., *Neurol. Clin.*, 5(4): 523-528.
- BONIFACE S. J., MILLS K. R., SCHUBERT M. (1991) Responses of single spinal motor neurons to magnetic brain stimulation in healthy subjects and patients with multiple sclerosis. *Brain*, 114: 643-662.
- BORBÉLY A. A., BAUMANN F., BRANDEIS D., STRAUCH I., LEHEMANN D. (1981) Sleep deprivation: effects on sleep stages and EEG power density in man. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, 51: 484-493.
- BOYLAN L. S., SACKEIM H. A. (2000) Magnetoelectric brain stimulation in the assessment of brain physiology and pathophysiology. *Clinical Neurophysiology*, 111: 504-512.

- BRASIL-NETO J., MCSHANE L. M., FUHR P., HALLETT M., COHEN L. G. (1992a) Topographic mapping of the human motor cortex with magnetic stimulation: factors affecting accuracy and reproducibility. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.*, 85: 9-16.
- BRASIL-NETO J. P., COHEN L. G., PANIZZA M., NILSSON J., ROTH B. J., HALLETT M. (1992b) Optimal focal transcranial magnetic activation of the human motor cortex: effects of coil orientation, shape of the induced current pulse, and stimulus intensity. *J Clin. Neurophysiol.*, 9: 132-136.
- BRAUN A. R., BALKIN T. J., WESENSTEN N. J., CARSON R. E., VARGA M., BALDWIN P., SELBIE S., BELENKY G., HERSCOVITCH P. (1997) Regional cerebral blood flow throughout the sleep-wake cycle-. An (H<sub>2</sub>O)-O-15 PET study. *Brain*, 120: 1173-1197.
- BRAUNE H. J., FRITZ C. (1996) Asymmetry of silent period evoked by transcranial magnetic stimulation in stroke patients. *Acta Neurol. Scand.*, 93 (2-3): 168-174.
- BREITER H. C., ETCOFF N. L., WHALEN P. J., KENNEDY W. A., RAUCH S. L., BUCKNER R. L., STRAUSS M. M., HYMAN S. E., ROSEN B. R. (1996) Response and habituation of the human amygdala during visula processing of facial expression. *Neuron*, 17: 875-887.
- BRITTON T. C., MEYER B. U., BENECKE R. (1991) Variability of cortically evoked motor responses in multiple sclerosis. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.*, 81 (3): 186-194.
- BROUGHTON R. J. (1990) *Sleep and sleep deprivation studies in epilepsy*. In: "Clinical Neurophysiology of Epilepsy ", Wada J. R. Ellingson (Ed.), EEG Handbook, Elsevier, Amsterdam, 4: 89-119.
- BROWN P., RIDDING M. C., WERHAHN K. J., ROTHWELL J. C., MARSDEN C. D. (1996) Abnormalities of the balance between inhibition and excitation in the motor cortex of patients with cortical myoclonus. *Brain*, 119: 309-317.
- BRUNNER D. P., DIJK D. J., TOBLER I., BORBÉLY A. A. (1990) Effect of partial sleep deprivation on sleep stages and EEG power spectra:evidence for non-REM and REM homeostasis. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, 75: 492-499.
- BRUNNER D. P., DIJK D. J., BORBÉLY A. A. (1993) Repeated partial sleep deprivation progressively changes the EEG during sleep and wakefulness. *Sleep*, 16: 100-113.
- BUZSAKI G., BRAGIN A., CHROBAK J. J., NADADY Z., SIK A., HSU M. e YLINEN A. (1994) *Oscillatory and intermittent synchrony in the hippocamou: relevance to memory trace formation*. In: "Temporal Coding in the Brain", Buzsaki G. e coll. (Ed.), Springer-Verlag, Berlino, 145-172.

- CAJOCHEN C., KNOBLAUCH V., KRÄUCHI K., RENZ C., WIRZ-JUSTICE A. (2001) Dynamics of frontal EEG activity, sleepiness and body temperature under high end low sleep pressure. *NeuroReport*, 12 (10): 2277-2281.
- CANTELO R., GIANELLI M., BETTUCCI D., CIVARDI C., DE ANGELIS M. S., MUTANI R. (1991) Parkinson's disease rigidità: magnetic motor evoked potentials in a small hand muscle. *Neurology*, 41: 1449-1456.
- CARAMIA M. D., CICINELLI P., PARADISO C., MARIOREZZI R., ZAROLA F., BERNARDI G., ROSSINI P. M. (1991) Excitability changes of muscular responses to magnetic brain stimulation in patients with central motor disorders. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.*, 81 (4): 243-250.
- CARAMIA M. D., GIGLIE G., IANI C., DESIATON M. D., DIOMEDI M., CALMIERI M. G., BERNARDI G. (1996) Distinguishing forms of generalized epilepsy using magnetic brain stimulation. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.*, 98: 14-19.
- CARR L. J., HARRISON L. M., EVANS A. L., STEPHENS J. A. (1993) Patterns of central motor reorganization in hemiplegic cerebral palsy. *Brain*, 116: 1223-1247.
- CASAGRANDE M., DE GENNARO L. (1998) *Metabolismo cerebrale e localizzazione dei generatori dell'attività EEG durante il sonno*. In: "Psicofisiologia del sonno. Metodi e tecniche di ricerca", Raffaello Cortina, Milano, 117-135.
- CHEN R., CLASSEN J., GERLOFF C., CELNIK P., WASSERMANN E. M., HALLETT M., COHEN L. G. (1997a) Depression of motor cortex excitability by low frequency transcranial magnetic stimulation. *Neurology*, 48: 1398-1403.
- CHEN R., SAMII A., CANOS M., WASSERMANN E. M., HALLETT M. (1997b) Effects of phenytoin on cortical excitability in humans. *Neurology*, 49: 881-883.
- CHEN R., GERLOFF C., CLASSEN J., WASSERMANN E. M., HALLETT M., COHEN L. G. (1998a) Safety of different inter-train intervals for repetitive transcranial magnetic stimulation and recommendations for safe ranges of stimulation parameters. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.*, 105: 415-421.
- CHEN R., TAM A., BUTEFISCH C., ZIEMANN U., ROTHWELL J. C., COHEN L. G. (1998b) Intracortical inhibition and facilitation in different representations of the human motor cortex. *J. Neurophysiol.*, 80: 2870-2881.
- CHOKROVERTY S., PICONE M. A., CHOKROVERTY M. (1991) Percutaneous magnetic coil stimulation of the human lumbosacral vertebral column: site of stimulation and clinical applications. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.*, 81 : 359-365.

- CHU N. (1990) Motor evoked potentials in Wilson's disease: early and late motor responses. *J. Neurol. Sci.*, 99: 259-269.
- CIVARDI C., BOCCAGLI C., VICENTINI R., BOLAMPERTI R., TRLETTI R., VARRASI C., MONACO F., CANTELLO R. (2001) Cortical excitability and sleep deprivation: a transcranial magnetic stimulation study. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*, 71: 809-812.
- CLASSEN J., SCHNITZLER A., BINKOFSKI F., WERHAHN K. J., KIM Y. S., KESSLER K. R., BENECKE R. (1997) The motor syndrome associated with exaggerated inhibition within the primary motor cortex of patients with hemiparetic. *Brain*, 120: 605-619.
- CLAUS D., WEIS M., JAHNKE U., PLEWE A., BRUNHÖLZL C. (1992) Corticospinal conduction studied with magnetic double stimulation in the intact human. *J. Neurol. Sci.*, 111: 180-188.
- COHEN L. G., ZIEMANN U., CHEN R., CLASSEN J., HALLET M., GERLOFF C., BUTEFISCH C. (1998) Studies of neuroplasticity with transcranial magnetic stimulation. *J. Clin. Neurophysiol.*, 15(4): 305-324.
- COHRS S., TERGAU F., RIECH S., KASTNER S., PAULUS W., ZIEMANN U., RÜTHER E., HAJAK G. (1998) High-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation delays rapid eye movement sleep. *NeuroReport*, 9: 3493-3443.
- CONTRERAS D., TIMOFEEV I., STERIADE M. (1996) Mechanisms of long lasting hyperpolarizations underlying slow sleep oscillations in cat corticothalamic networks. *J. Physiol. (London)*, 494: 251-264.
- COWEY A., STOERIG P. (1991) The neurobiology of blindsight. *Trends Neurosci.*, 14: 140-145.
- COWEY A., WALSH V. (2000) Magnetically induced phosphenes in sighted, blind and blindsighted subjects. *Neuroreport*, (in stampa).
- CRACCO J. B., ROSSINI P. M. (1998) *Evoked responses and transcranial brain stimulation. Application to reflex epilepsy*. Zifkin, In: "Reflex Epilepsy and Reflex Seizures", Andermann, Beaumanoir e Rowan (Ed.), Advances in Neurology, Lippincott-Raven, 75: 49-67.
- CRUZ-MARTINEZ A., ARPA J. (1997) Transcranial magnetic stimulation in patients with cerebellar stroke. *Eur. neurol.*, 38 (2): 82-87.
- CRUZ-MARTINEZ A., MUÑOZ J., PALACIOS F. (1998) The muscle inhibitory period by transcranial magnetic stimulation. study in stroke patients. *Electromyogr. clin. Neurophysiol.*, 38: 189-192.
- DAY B. L., DRESSLER D., MAERTENS DE NOORDHOUT A., MARSDEN C. D., NAKASHIMA K., ROTHWELL J. C., THOMPSON P. D. (1989) Electric and magnetic

- stimulation of human motor cortex: surface EMG and single motor unit responses. *J. Physiol.* (London), 412: 449-473.
- DE GENNARO L., FERRARA M., CURCIO G., CRISTIANI R. (2001) Antero-posterior EEG changes during the wakefulness-sleep transition. *Clin Neurophysiol.*, 112: 1901-11.
- DE GENNARO L., FERRARA M. (2002) Sleep spindles: an overview. *Sleep Medicine Reviews*, 1-18.
- DE GENNARO L., FERRARA M., CURCIO G., CRISTIANI R., BERTINI M. (2002) Cortical topography of REM onset: The posterior dominance of middle and high EEG frequencies. *Clin Neurophysiol.*, 113: 561-70.
- DELITIS V., SCHILD J. H., BERIC A., DIMITRIJEVIC M. R. (1987) Facilitation of motor evoked potentials by somatosensory afferent stimulation. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.*, 85: 302-310.
- DEMENT W., RECHTSCHAFFEN A., GULVITCH G. (1966) The nature of narcoleptic sleep attack. *Neurology*, 16: 18-33.
- DIJK D. J., HAYES B., CZEISLER C. A. (1993) Dynamics of electroencephalographic sleep spindles and slow wave activity in men: effect of sleep deprivation. *Brain Res.*, 626: 190-199.
- DI LAZZARO V., RESTUCCIA D., OLIVIERO A., PROFICUE P., FERRARA L., INSOLA A. e coll. (1989) Magnetic transcranial stimulation at intensities below active motor threshold activates intracortical inhibitory circuits. *Exp. Brain Res.*, 119: 265-268.
- DI LAZZARO V., MOLINARI M., RESTUCCIA D., LEGGIO M. G., TARDONE R., FOGLI D., TONALI P. (1994) Cerebro-cerebellar interactions in man: neurophysiological studies in patients with focal cerebellar lesions. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.*, 93 (1): 27-34.
- DIRNAGEL U., LINDAUER U., VILLRINGER U. (1993) Role of nitric oxide in the coupling of cerebral blood flow to neuronal activation in rats. *Neurosci. Lett.*, 149: 43-46.
- DOMINKUS M., GRISOLD W., JEINEK V. (1991) Transcranial electrical motor evoked potentials as a prognostic indicator for motor recovery in stroke patients. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*, 53: 745-748.
- DORAN S. (1995) Dynamic scalp topography of individual sleep spindles. *Sleep Res.*, 24: 4.
- DOYON J., OWEN A. M., PETRIDES M., SZIKLAS V., EVANS A. C. (1996) Functional anatomy of visuomotor skill learning in human subjects examined with positron emission tomography. *Eur. J. Neurosci.*, 8 (4): 637-648.

- DÜZEL E., HUFNAGEL A., HELMSTAEDTER C., ELGER C. (1996) Verbal working memory components can be selectively influenced by transcranial magnetic stimulation in patients with left temporal lobe epilepsy. *Neuropsychologia*, 34 (8): 775-783.
- EISEN A., PANT B., STEWART H. (1993) Cortical excitability in amyotrophic lateral sclerosis: a clue to pathogenesis. *Can. J. Neurol. Sci.*, 20 (1): 11-16.
- ELLIOTT H. C. (1969), *Textbook of Neuroanatomy*. (seconda edizione), J. B. Lippincott.
- ENTEZARI T. M., SINGLETON J. R., JONES C. R., MEEKINS G., PETAJAN J. H., SMITH A. G. (1999) Changes in excitability of motor cortical circuitry in primary restless legs syndrome. *Neurology*, 53 (6): 1291-1205.
- ESCUDERO J. V., SANCHO J., BAUTISTA D., ESCUDERO M., LOPEZ-TRIGO J. (1998) Prognostic value of motor evoked potential obtained by transcranial magnetic brain stimulation in motor function recovery in patients with acute ischemic stroke. *Stroke*, 29 (9): 1854-1859.
- FERBERT A., MUSSMANN N., MENNE A., BUCHNER H., HARTJE W. (1991) Short-term memory performance with magnetic stimulation of the motor cortex. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience*, 241 (6): 135-138.
- FERBERT A., PRIORI A., ROTHWELL J. C., DAY B. L., COLEBATCH J. G., MARSDEN C. D. (1992) Interhemispheric inhibition of the human motor cortex. *J. Physiol.*, 453: 525-546.
- FERRARA M., DE GENNARO L., BERTINI M. (1999) Selective slow-wave sleep (SWS) deprivation and SWS rebound: do we need a fixed SWS amount per night? *Sleep Res. Online*, 2: 15-19.
- FERRARA M., DE GENNARO L., CURCIO G., CRISTIANI R., CORVASCE C. e BERTINI M. (2002) Regional Differences of the Human Sleep Electroencephalogram in Response to Selective Slow-wave Sleep Deprivation. *Cerebral Cortex Mon.*, 5 (12): 1-13.
- FIERRO B., BRIGHINA F., OLIVERI M., PIAZZA A., BUA V., BUFFA D., BISIACH E. (2000) Controlateral neglect induced by right posterior parietal rTMS in healthy subjects. *Neuroreport*, 11: 1519-1521.
- FIGIEL G. S., EPSTEIN C., MCDONALD W.M., AMAZON-LEECE J., FIGIEL L., SALDIVIA A. e GLOVER S. (1998) The use of rapid rate transcranial magnetic stimulation (rTMS) in refractory depressed patients. *J. Neuropsychiatry Clin. Neurosci.*, 10: 20-25.
- FINELLI L. A., BAUMANN H., BORBÉLY A. A., ACHERMANN P. (2000) Dual electroencephalogram markers of human sleep homeostasis: correlation between theta activity in waking and slow-wave activity in sleep. *Neuroscience*, 101: 523-529.

- FINELLI L. A., BORBÉLY A. A., ACHERMANN P. (2001) Functional topography of the human nonREM sleep electroencephalogram. *European Journal of Neuroscience*, 13: 2282-2290.
- FISH D. R., SAWYERS D., SMITH S. J., ALLEN P. J., MURRAY N. M., MARSDEN C. D. (1991) Motor inhibition from the brainstem is normal in torsion dystonia during REM sleep. *J Neurol. Neurosurg. Psychiatry*, 54: 140-144.
- FITZPATRICK S. M., ROTHMAN D. L. (2000) Transcranial magnetic stimulation and studies of human cognition (meeting report). *Journal of Cognitive Neuroscience* (Massachusetts Institute of Technology), 12 (4): 704-709.
- FLITMAN S. S., GRAFMAN J., WASSERMANN E. M., COOPER V., O'GRADY J., PASCUAL-LEONE A., HALLETT M. (1998) Linguistic processing during repetitive transcranial magnetic stimulation. *Neurology*, 50 (1): 175-181.
- FOX P. e coll. (1997) Imaging human intra cerebral connectivity by PET during TMS. *Neuroreport*, 8: 2787-2791.
- FRANZINI C. (1992) Brain metabolism and blood flow during sleep. *J. Sleep Res.*, 1: 3-16.
- FRIES W., DANEK A., WITT T. N. (1991) Motor responses after transcranial electrical stimulation of cerebral hemispheres with a degenerated pyramidal tract. *Ann. Neurol.*, 29 (6): 646-650.
- FUHR P., AGOSTINO R., HALLETT M. (1991) Spinal motor neuron excitability during the silent period after cortical stimulation. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.*, 81: 257-262.
- GEORGE M. S., WASSERMANN E. M. (1994) Rapid-rate transcranial magnetic stimulation (rTMS) and ECT. *Convulsive Ther.*, 10 (4): 251-253.
- GEORGE M. S., KETTER T. A., PAREKH P. I., HORWITZ B., HERSCOVITCH P., POST R. M. (1995) Brain activity during transient sadness and happiness in healthy women. *Am. J. Psychiatry*, 152: 341-351.
- GEORGE M. S., KETTER T. A., POST R. M. (1996a) *What functional imaging studies have revealed about the brain basis of mood and emotion*. In: "Advances in Biological Psychiatry", J. Panksepp (Ed.), JAI Press, Greenwich, CT: 63-113.
- GEORGE M. S., WASSERMAN E. M., WILLIAMS W. A., CALLAHAN A., KETTER T. A., BASSER P., HALLETT M., POST R. M. (1996b) Daily repetitive transcranial magnetic stimulation improves mood in depression. *Neuroreport*, 6: 1853-1856.
- GEORGE M. S., WASSERMAN E. M., WILLIAMS W. A., STEPPEL J., PASCUAL-LEONE A., BASSER P., HALLETT M., POST R. M. (1996c) Changes in mood and hormone levels after rapid-rate transcranial magnetic stimulation of the prefrontal cortex. *J. Neuropsychiatry Clin. Neurosci.* 8: 172-180.



- GEORGE M. S., KETTER T. A., PAREKH P. I., HERSCOVITCH P., POST R. M. (1996d) Gender differences in rCBF during transient self-induced sadness or happiness. *Biol. Psychiatry*, 40: 859-871.
- GEORGE M. S., WASSERMAN E. M., WILLIAMS W. A., KIMBRELL T. A., LITTLE J. T., HALLETT M., POST R. M. (1997) Mood improvements following daily left prefrontal repetitive transcranial magnetic stimulation in patients with depression: in a placebo-controlled crossover trial. *Am. J. Psychiatry*, 154: 1752-1756.
- GEORGE M. S., AVERY D., NAHAS Z., MOLLOY M., OLIVER N. C., RISCH S. C., ARANA G. W. (1999a) *rTMS studies of mood and emotion*. In: "Transcranial Magnetic Stimulation" (EEG Suppl. 51), Paulus W., Hallett M., Rossini P. M., Rothwell J. C. (Ed.), Elsevier Science B.V., 304-314.
- GEORGE M. S., KETTER T. A., KIMBRELL T. A., SPEER A. M., LORBERBAUM J., LIBERATOS C. C., NAHAS Z., POST R. M. (1999b) *Neuroimaging approaches to the study of emotion*. In: "The Neuropsychology of Emotion", J. Borod (Ed.), Oxford University Press, New York, (in stampa).
- GEORGE M. S., LISANBY S. H., SACKEIM H. A. (1999c) Transcranial magnetic stimulation: applications in neuropsychiatry. *Arch. Gen. Psychiatry*, 65: 540-549.
- GERLOFF C., CORWELL B., CHEN R., HALLETT M., COHEN L.G. (1997) Stimulation over the human supplementary motor area interferes with the organization of future elements in complex motor sequences. *Brain*, 120 (9): 1587-1602.
- GIANELLI M., CANTELLO R., CIVARDI C., NALDI P., BETTUCCI D., SCHIAVELLA M. P., MUTANI R. (1994) Idiopathic generalized epilepsy: magnetic stimulation of motor cortex time-locked and unlocked to 3-Hz spike-and-wave discharges. *Epilepsia*, 35 (1): 53-60.
- GÖBEL U., THEILEN H., KUCHINSKY W. (1990) Congruence of total and perfused capillary network in rat brains. *Circulation Res.*, 66: 271-281.
- GORDON H.W., FROOMAN B., LAVIE P. (1982) Shift in cognitive asymmetries between wakings from REM and NREM sleep. *Neuropsychologia*, 20: 99-103.
- GRAF T., ENGELER J., ACHERMANN P., MOSIMANN U. P., NOSS R., FISCH H.-U., SCHLAEPFER T. E. (2001) High frequency repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) of the left dorsolateral cortex: EEG topography during waking and subsequent sleep. *Psychiatry Res.: Neuroimaging Section*, 107: 1-9.
- GRAFMAN J., PASCUAL-LEONE A., ALWAY D., NICHELLI P., GOMEZ-TORTOSA E., HALLETT M. (1994) Induction of a recall deficit by rapid-rate transcranial magnetic stimulation. *Neuroreport*, 5 (9): 1157-1160.

- GRAFMAN J. e WASSERMANN E. (1999) Transcranial magnetic stimulation can measure and modulate learning and memory. *Neuropsychologia*, 37: 159-167.
- GRAFMAN J. (2000), *Transcranial Magnetic Stimulation in Neuropsychiatry*. George M. S. e Bellmarker R. H. (Ed.), American Psychiatric Press, Washington DC, 115-140.
- GREENBERG B. D., MARTIN J. D., CORÀ-LOCATELLI G., WASSERMANN E. M., GRAFMAN J., KIMBRELL T. A., SCHLAEPFER T. E., GEORGE M. S., JACOBSEN F., POST R. M., MURPHY D. L. (1997) Effects of a single treatment with rTMS at different brain site in depression. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, 103 (Abstract): 77.
- GROSSE P., KHATAMI R., SALIH F., KÜHN A., MEYER B.-U. (2002) Corticospinal excitability in human sleep as assessed by transcranial magnetic stimulation. *Neurology*, 59: 1988-1990.
- GRUNHAUS L., SHIPLEY J. E., EISER A., PANDE A. C., TANDON R., KRAHN D., DEMITRACK M. A., REMEN A., HIRSCHMANN S., GREDEN J. F. (1997) Sleep-onset rapid eye movement after electroconvulsive therapy is more frequent in patients who respond less well to electroconvulsive therapy. *Biol. Psychiatry*, 42 (3): 191-200.
- GRUNHAUS L., DANNON P., SCHRIEBER S. (1998) Effects of transcranial magnetic stimulation on severe depression: similarities with ECT. *Biol. Psychiatry*, 43: 76 (Abstract).
- GUALTIEROTTI T., PATERSON A. S. (1954) Electrical stimulation of the unexposed cerebral cortex. *J. Physiol.*, 125: 278-291.
- GUASTAMACCHIA G., ZIBETTI M., FANARI P., CICOLIN A., MUTANI R. (2000), Ridotta eccitabilità corticale in pazienti affetti da sindrome delle apnee morfeiche ostruttive. Studio di stimolazione magnetica transcranica. *AIMS (Associazione Italiana di Medicina del Sonno)*, 10° Congresso Nazionale, Abstract, 146-147.
- GUILLEMINAULT C., WILSON R. A., DEMENT W. C. (1974) A study on cataplexy. *Arch. Neurol.*, 31: 255-261.
- HAJAK G., KLINGELHOFER J., SCHULZ-VARSZEGI M. e coll. (1994) Relationship between cerebral blood flow velocities and cerebral electrical activity in sleep. *Sleep*, 17: 11-19.
- HAJAK G., COHRS S., TERGAU F., ZIEMANN U., PAULUS W., RÜTHER E. (1999) *Sleep and rTMS. Investigating the link between transcranial magnetic stimulation, sleep and depression*. In: "Transcranial Magnetic Stimulation" (EEG Suppl. 51), Paulus W., Hallett M., Rossini P. M., Rothwell J. C. (Ed.), Elsevier Science B.V., 315-321.
- HALLETT M. (1995) Transcranial magnetic stimulation. Negative effects. *Adv. Neurol.*, 67: 197-113.

- HALLETT M., WASSERMANN E. M., PASCUAL-LEONE A., VALLS-SOLÉ J. (1999) Repetitive transcranial magnetic stimulation. *Clinical Neurophysiology*, 105-113.
- HALLETT M. (2000) Transcranial magnetic stimulation and the human brain. *Nature*, 406: 147-150.
- HEALD A., BATES D., CARTLIDGE N. E. F., FRENCH J. M., MILLER S. (1993a) Longitudinal study of central motor conduction time following stroke. 1. Natural history of central motor conduction. *Brain*, 116: 1355-1370.
- HEALD A., BATES D., CARTLIDGE N. E. F., FRENCH J. M., MILLER S. (1993b) Longitudinal study of central motor conduction time following stroke. 2. Central motor conduction measured within 72 h after stroke as a predictor of functional outcome at 12 months. *Brain*, 116: 1371-1385.
- HESS C. W., MILLS K. R., MURRAY N. M., SCHRIEFER T. N. (1987) Excitability of the human motor cortex is enhanced during REM. *Neurosci. Lett.*, 82 (1): 47-52.
- HOBSON J. A., MCCARSLY R. W. (1971) Cortical unit activity in sleep and waking. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, 30: 97-112.
- HOBSON J. A., PACE-SCHOTT E. F., STICKGOLD R., KAHN D. (1998) To dream or not to dream? Relevant data from new neuroimaging and electrophysiological studies. *Curr. Opin. Neurobiol.*, 8: 239-244.
- HODES R., SUZUKI J. I. (1965) Comparative thresholds of cortex, vestibular system and reticular formation in wakefulness, sleep and rapid eye movement periods. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, 18: 239-248.
- HOFLE N., PAUS T., REUTENS D., FISET P., GOTMAN J., EVANS A. C., JONES B. E. (1997) Regional cerebral blood flow changes as a function of delta and spindle activity during slow wave sleep in humans. *J. Neurosci.*, 17: 4800-4808.
- HÖMBERG V., STEPHAN K. M., NETZ J. (1991) Transcranial stimulation of motor cortex in upper motor neurone syndrome: its relation to the motor deficit. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.*, 81 (5): 377-388.
- HORNE J. A. (1993) Human sleep, sleep loss and behaviour: implications for the prefrontal cortex and psychiatric disorder. *Br. J. Psychiatry*, 162: 413-419.
- HOTSON M., BRAUN D., HERZBERG W., BORNAN D. (1994) Transcranial magnetic stimulation of extrastriate cortex degrades human motion direction discrimination. *Vision Res.*, 34: 2115-2123.

- HUAG B. A., SCHONLE P. W., KNOBLOCH C., KOHNE M. (1992) Silent period measurement revives as a valuable diagnostic tool with transcranial magnetic stimulation. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.*, 85 (2): 158-160.
- HUFNAGEL A., ELGER C. E., MARX W., ISING A. (1990) Magnetic motor evoked potentials in epilepsy: effects of the disease and of anticonvulsant medication. *Ann. Neurol.*, 28: 680-686.
- HUFNAGEL A., CLAUS D., BRUNHOELZL C., SUDHOP T. (1993) Short-term memory : no evidence of effect of rapid-repetitive transcranial magnetic stimulation in healthy individuals. *Journal of neurology*, 240 (6): 373-376.
- INGHILLERI M., BERARDELLI A., MARCHETTI P., MANFREDI M. (1996) Effects of diazepam, baclofen and thiopental on the silent period evoked by transcranial magnetic stimulation in humans. *Exp. Brain Res.*, 109: 467-472.
- JANKEL W. R., NIEDERMAYER E. (1985) Sleep spindles. *J. Clin. Neurophysiol.*, 2: 1-35.
- JOBERT M., POISEAU E., JAHNIG P., SCHULZ H., JUBICKI S. (1992) Topographical analysis of sleep spindle activity. *Neuropsychobiology*, 26: 210-217.
- JONES B. E. (1990) Paradoxical sleep and its chemical/structural substrates in the brain. *Neuroscience*, 40: 637-656.
- JUEPTNER M. e WEILLER C. (1995) Review: does measurement of regional cerebral blood flow reflect synaptic activity? Implications for PET and fMRI. *Neuroimage*, 2: 148-156.
- KAJIMURA N., UCHIYAMA M., TAKAYAMA Y., UCHIDA S., UEMA T., KATO M., SEKIMOTO M., WATANABE T., NAKAJIMA T., HORIKOSHI S., OGAWA K., NISHIKAWA M., HIROKI M., JUDO Y., MATSUDA H., OKAWA M., TAKAHASHI K. (1999) Activity of midbrain reticular formation and neocortex during the progression of human non-rapid eye movement sleep. *J. Neurosci.*, 19: 10065-10073.
- KAPUR N. (1996) Paradoxical functional facilitation in brain behavior research. A critical review. *Brain*, 119: 1775-1790.
- KARNI A., TANNER D., RIBENSTEIN S., ASKENASKY J. J. M., SAGI D. (1994) Dependence on REM sleep of overnight improvement of a perceptual skill. *Science*, 265: 679-682.
- KATTLER H., DIJK D. J., BORBÉLY A. A. (1994) Effect of unilateral somatosensory stimulation prior to sleep on the sleep EEG in humans. *J. Sleep Res.*, 3: 159-164.
- KETTER T. A., ANDREASON P. J., GEORGE M. S., LEE C., GILL D. S., PAREKH P. I., WILLIS M. W., HERSCOVITCH P., POST R. M. (1996) Anterior paralimbic mediation of procaine-induced emotional and psychosensory experiences. *Arch. Gen. Psychiatry*, 53: 59-69.

- KETY S. S., SCHMIDT J. C. (1948) The nitrous oxide method for the quantitative determination of cerebral blood flow in man: theory, procedure and normal values. *J. Clin. Invest.*, 27: 476-483.
- KIMURA J. The F-wave. In: Kimura J. (Ed) (1983) *Electrodiagnosis in Disease of Nerve and Muscle: Principle and Practice*. Davies, Philadelphia, PA, 305-311.
- KLEIN E., KREINEN I., CHISTYAKOV A., FEINSOD M. (1997) Therapeutic efficacy of prefrontal repetitive transcranial magnetic stimulation in major depression: a double-blind controlled study. *ACNP Abstr. Panels Posters*.
- KLEIN E., KREINEN I., CHISTYAKOV A., KOREN D., MECZ L., MARMUR S., BENSHACHAR, D., FEINSOD M. (1999) Therapeutic efficacy of right prefrontal slow repetitive transcranial magnetic stimulation in major depression: a double-blind controlled study. *Arch. Gen. Psychiatry*, 56: 315-320.
- KLING J. W., YARITA M., YAMAMOTO T., MATSUMIYA Y. (1990) Memory for conditioned taste aversions is diminished by transcranial magnetic stimulation. *Physiology and Behavior*, 48 (5): 713-717.
- KLINGELHOFER J., HAJAK G., MATZANDER G. e coll. (1995) Dynamics of cerebral blood flow velocities during normal human sleep. *Clin. Neurol. Neurosurg.*, 97: 142-148.
- KO K., NGAI A. C., WINN H. R. (1990) Role of adenosine in regulation of regional cerebral blood flow in sensory cortex. *Am. J. Physiol.*, 259: H1703-H1708.
- KOH T. H., EYRE J. A. (1988) Maturation of corticospinal tracts assessed by electromagnetic stimulation of the motor cortex. *Arch. Dis. Child.*, 63 (11): 1347-1352.
- KOSSLYN S. M., PASCUAL-LEONE A., FELICIAN O., CAMPOSANO S., KEENAN J. P., THOMPSON W. L., GANIS G., SUKEL K. E., ALPERT N. M. (1999) The role of area 17 in visual imagery: convergent evidence from PET and rTMS. *Science*, 284: 167-170.
- KRUEGER J. M. e OBÀL F. A. (1993) A neuronal group theory of sleep function. *J. Sleep Res.*, 2: 63-69.
- KUCHINSKY W. e PAULSON O. B. (1992) Capillary circulation in the brain. *Cerebrovasc. Brain. Metab. Rev.*, 4: 261-286.
- KUCHINSKY W. (1997) *Neuronal-vascular coupling*. In: "Optical Imaging of Brain Function and metabolism. 2. Physiological Basis and Comparison to Other Functional Neuroimaging Methods. Advances in Experimental Medicine and Biology", Villringer A. e Dirnagl U. (Ed.), Plenum press, New York, 167-175.

- KUJIRAI T., CARAMIA M. D., ROTHWELL J. C., DAY B. L., THOMPSON P. D., FERBERT A. (1993) Corticocortical inhibition in human motor cortex. *J. Physiol.* (London), 471: 501-519.
- KUKOWSKI B. (1993) Duration, configuration and amplitude of the motor response evoked by magnetic brain stimulation in patients with multiple sclerosis. *Electromyogr. clin. Neurophysiol.*, 33 (5): 295-297.
- KUPFER D. J., SPIKER D. G., COBLE P. A., NEIL J. F., ULRICH R., SHAW D. H. (1981) Sleep and treatment prediction in endogenous depression. *Am. J. Psychiatry*, 138 (4): 429-434.
- LANE R. D., FINK G. R., CHAU P. M., DOLAN R. J. (1997) Neural activation during selective attention to subjective emotional responses. *NeuroReport*, 8: 3969-3972.
- LAI Y. e SIEGEL J. (1999) *Muscle atonia in REM sleep*. In: "Rapid Eye Movement Sleep", Mallick B. e Inoue S. (Ed.), Narosa Publishing House, 69-90.
- LIEPERT J., SCHWENKREIS P., TEGENTHOFF M., MALIN J-P. (1997) The glutamate antagonist Riluzole suppresses intracortical facilitation. *J. Neural Transm.*, 104: 1207-1214.
- LOMBER S. (1999) The advantages and limitations of permanent or reversible deactivation techniques in the assessment of neural function. *J. Neurosci. Meth.*, 86: 109-118.
- LOO C., MITCHELL P., SACHDEV P., MCDARMONT B., PARKER G., GANDEVIA S. (1999) rTMS: a sham-controlled trial in medication-resistant depression. *Am. J. Psychiatry*, 156: 946-948.
- MACCABEE P. J., AMASSIAN V. E., EBERLE L. P., RUDELL A. P., CRACCO R. Q., LAI K. S., SOMASUNDARAM M. (1991) Measurement of electric field induced into inhomogeneous volume conductors by magnetic coils: application to human spinal neurogeometry. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.*, 18: 224-237.
- MADSEN P. L., HOLM S., VORSTRUP S., FRIBERG L., LASSEN N. L., WILDSCHIODTZ G. (1991) Human regional cerebral blood flow during rapid-eye-movement sleep. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, 11: 502-507.
- MADSEN P. L. e VORSTRUP S. (1991) Cerebral blood flow and metabolism during sleep. *Cerebrovasc. Brain Metab. Rev.*, 3: 281-296.
- MAEDA F., GANGITANO M., THALL M., PASCUAL-LEONE A. (2002) Inter- and intra-individual variability of paired-pulse curves with transcranial magnetic stimulation (TMS). *Clin. Neurophysiol.*, 113: 376-382.
- MAERTENS DE NOORDHOUT A., ROTHWELL J. C., THOMPSON P. D., DAY B. L., MARSDEN C. D. (1988) Percutaneous electrical stimulation of lumbosacral roots in man. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*, 51: 174-181.

- MAERTENS DE NOORDHOUT A., PEPIN J. L., SCHOENEN J., DELWAIDE P. J. (1992) Percutaneous magnetic stimulation of the motor cortex in migraine. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.*, 85 (2) : 110-115.
- MAGISTRETTI P. J. e PELLERIN L. (1996a) Cellular bases of brain metabolism and their relevance to functional imaging: evidence for a prominent role of astrocytes. *Cerebral Cortex*, 6: 50-61.
- MAGISTRETTI P. J. e PELLERIN L. (1996b) Cellular mechanisms of brain energy metabolism. Relevance to functional brain imaging and neurodegenerative disorders. *Ann. NY Acad. Sci.*, 777: 380-387.
- MANCONI M., GASTALDO E., QUATRALE R., TUGNOLI V., ELEOPRA R., MONETTI V. C., GRANIREI E. (2000) Studio dell'eccitabilità corticale motoria in pazienti affetti da sindrome delle gambe senza riposo idiopatica. *AIMS (Associazione Italiana di Medicina del Sonno)*, 10° Congresso Nazionale, Abstract, 132.
- MANCONI M. (2002), Eccitabilità della via corticospinale nel sonno. *AIMS (Associazione Italiana di Medicina del Sonno)*, *Bollettino di Informazione*, Monografia, n.1: 1-9.
- MANGANOTTI P., PALERMO A., PATUZZO S., DONGIOVANNI L. G., ZANETTE G. P., FIASCHI A. (2001a), Effetti della privazione di sonno sull'eccitabilità motoria: studi mediante stimolazione magnetica transcranica in un gruppo di soggetti normali. *AIMS (Associazione Italiana di Medicina del Sonno)*, 10° Congresso Nazionale, Abstract, 189.
- MANGANOTTI P., PALERMO A., PATUZZO S., ZANETTE G., FIASCHI A. (2001b) Decrease in motor cortical excitability in human subjects after sleep deprivation. *Neuroscience Letters*, 304: 153-156.
- MANGOLD R., SOKOLOFF L., CONNER e coll. (1955) The effects of sleep and lack of sleep on the cerebral circulation and metabolism of normal young men. *J. Clin. Invest.*, 34: 1092-1100.
- MAQUET P., DIVE D., SALMON E., SADZOT B., FRANCO G., POIRRIER R., VON FRENCKELL R., FRANCK G. (1990) Cerebral glucose utilization during sleep-wake cycle in man determined by positron emission tomography and [18 F]2-fluoro-2-deoxy-D-glucose method. *Brain Res.*, 513 : 136-143.
- MAQUET P., PÉTERS J. M., AERTS J., DELFIORE G., DEGUELDRE C., LUXEN A., FRANCK G. (1996) Functional neuroanatomy of human rapid eye movement sleep and dreaming. *Nature*, 383: 163-166.

- MAQUET P., DEGUELDRE C., DELFIORE G., AERTS J., PÉTERS J. M., LUXEN A. e FRANCK G. (1997) Functional neuroanatomy of human slow wave sleep. *J. Neurosci.*, 17: 2807-2812.
- MAQUET P. e PHILLIPS C. (1998) Functional brain imaging of human sleep. *J. Sleep Res.*, 7 (Suppl. 1): 42-47.
- MAQUET P. (2000) Functional neuroimaging of normal human sleep by positron emission tomography. *J. Sleep Res.*, 9: 207-231.
- MAQUET P., LAUREYS S., PEIGNEUX P. e coll. (2000) Experience-dependent changes in cerebral activation during human REM sleep. *Nat. Neurosci.*, 3: 831-836.
- MAQUET P., SCHWARTZ S., PASSINGHAM R., FRITH C. R. (2003) Sleep-related consolidation of a visuomotor skill: brain mechanisms as assessed by functional magnetic resonance imaging. *J. Neurosci.*, 23: 1432-1440.
- MARCHIAFAVA P. L., POMPEIANO O. (1964) Pyramidal influences on spinal cord during desynchronized sleep. *Arch. Ital. Biol.*, 102: 500-529.
- MARTIN J. D., GEORGE M. S., GREENBERG B. D., WASSERMANN E. M., SCHLAEPFER T. E., MURPHY D. L., HALLETT M., POST R. M. (1997) Mood effects of prefrontal repetitive high-frequency TMS in healthy volunteers. *CNS Spectrums: Int. J. Neuropsychiatric Med.*, 2: 53-68.
- MCCANN U. D., KIMBRELL T. A., MORGAN C. M., ANDERSON T., GERACI M., BENSON B. E., WASSERMANN E. M., WILLIS M. W., POST R. M. (1998) Repetitive transcranial magnetic stimulation for posttraumatic stress disorder. *Archives of General Psychiatry*, 55 (3): 276-279.
- MERTON P.A., HILL D. K., MORTON H. B., MARDSEN C. D. (1982) Scope of a technique for electrical stimulation of human brain, spinal cord, and muscle. *Lancet*, 2 (8298): 597-600.
- MILSTEIN V., SMALL J. G., KLAPPER M. H., SMALL I. F., MILLER M. J., KELLAMS J. J. (1987) Uni-versus bilateral ECT in treatment of mania. *Convulsive ther.*, 3: 1-9.
- MORALES F. R., CHASE M. H. (1981) Postsynaptic control of lumbar motoneuron excitability during active sleep in the chronic cat. *Brain Res.*, 225: 279-295.
- MORALES F. R., CHASE M. H. (1983) *Postsynaptic mechanisms responsible for motor inhibition during active sleep*. In: "Sleep disorders, basic and clinical research", Chase M., Weitzman E. D., (Ed.) Lancaster, UK: MTP Press Limited, 71-94.
- MÜLLER K., HÖMBERG V., AULICH A., LEONARD H. G. (1992) Magnetoelectrical stimulation of motor cortex in children with motor disturbances. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.*, 42 (5): 86-94.



- MUZUR A., PACE-SCHOTT E. F., HOBSON J. A. (2002) The prefrontal cortex in sleep. *Trends in Cognitive Sciences*, 6 (11): 475-481.
- NAGAO S., KAWAI N. (1992) Prediction of motor function by magnetic brain stimulation in patients with intracerebral hematoma. *Neurol. Med. Chir. (Tokyo)*, 32 (5): 268-274.
- NAHAS Z., BOHNING D. E., MOLLOY M., OUTZ J. A., RISCH S. C., GEORGE M. S. (1999) Safety and feasibility of repetitive transcranial magnetic stimulation in the treatment of anxious depression in pregnancy. *J. Clin. Psychiatry*, 60: 50-52.
- NAJAMURA H., KITAGAWA H., KAWAGUCHI Y., TSUJI H. (1997) Intarcortical facilitation and inhibition after transcranial magnetic stimulation in conscious humans. *J. Physiol. (London)*, 498: 817-823.
- NEZU A., KIMURA S., UEHARA S., KOBAYASHI T., TANAKA M., SAITO K. (1997) Magnetic stimulation of motor cortex in children: maturity of corticospinal pathway and problem of clinical application. *Brain*, 19 (3): 176-180.
- NIELSEN J. F. (1997) Frequency-dependent conduction delay of motor evoked potentials in multiple sclerosis. *Muscle nerve*, 20 (10): 1264-1274.
- NOFZINGER E. A., MINTUN M. A., WISEMAN M., KUPFER D. J., MOORE R. Y. (1997) Forebrain activation in REM sleep: an FDG PET study. *Brain Res.*, 770: 192-201.
- NOFZINGER E. A., BUYSSE D. J., MIEWALD J. M., MELTZER C. C., PRICE J. C., SEMBRAT R. C., OMBAO H., REYNOLDS C. F., MONK T. H., HALL M., KUPFER D. J., MOORE R. Y. (2002) Human regional cerebral glucose metabolism during non-rapid eye movement sleep in relation to waking. *Brain*, 125: 1105-1115.
- NORTHINGTON F. J., MATHERNE G. P., BERNE R. M. (1992) Competitive inhibition of nitric oxide synthase prevents the cortical hyperemia associated with peripheral nerve stimulation. *Proc. Natl Acad. Sci., USA*, 89: 6649-6652.
- OLIVIERI M., ROSSINI P. M., PASQUALETTI P., TRAVERSA R., CICINELLI P., CALMIERI M. G., TORMAIUOLO F., CALTAGIRONE C. (1999a) Interhemispheric asymmetries in the perception of unimanual and bimanual cutaneous stimuli: a study using transcranial magnetic stimulation. *Brain*, 122: 1721-1729.
- OLIVIERI M., ROSSINI P. M., TRAVERSA R., CICINELLI P., FILIPPI M. M., PASQUALETTI P., TORMAIUOLO F., CALTAGIRONE C. (1999b) Left frontal transcranial magnetic stimulation reduces contralesional extinction in patients with unilateral right brain damage. *Brain*, 122: 1731-1739.
- PADBERG F., HAAG C., ZWANZGER P., THOMA H., KATHMANN N., STUBNER S., HAMPEL H., MOLLER H. J. (1998) Rapid and slow transcranial magnetic stimulation are

- equally effective in medication-resistant depression: a placebo-controlled study. *CINP Abstracts, 21° Congresso*: 103.
- PASCUAL-LEONE A., GATES J. R., DHUNA A. (1991) Induction of speech arrest and counting errors with rapid rate transcranial magnetic stimulation. *Neurology*, 41: 697-702.
- PASCUAL-LEONE A., HOUSER C. M., REEVES K., SHOTLAND L. I., GRAFMAN J., SATO S., VALLS-SOLÉ J., BRASIL-NETO J. P., WASSERMANN E. M., COHEN L. G., HALLETT M. (1993) Safety of rapid-rate transcranial magnetic stimulation in normal volunteers. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.*, 89: 120-130.
- PASCUAL-LEONE A., HALLETT M. (1994) Induction of errors in a delayed response task by repetitive transcranial magnetic stimulation of the dorsolateral prefrontal cortex. *Neuroreport*, 5 (18): 2517-2520.
- PASCUAL-LEONE A., VALLS-SOLÉ J., WASSERMANN E. M., HALLETT M. (1994a) Responses to rapid-rate transcranial stimulation of the human motor cortex. *Brain*, 117: 847-858.
- PASCUAL-LEONE A., VALLS-SOLÉ J., BRASIL-NETO J. P., CAMMAROTA A., GRAFMAN J., HALLETT M. (1994b) Akinesia in Parkinson's disease. II. Effects of subthreshold repetitive transcranial motor cortex stimulation. *Neurology*, 44 (5): 892-898.
- PASCUAL-LEONE A., GRAFMAN J., HALLETT M. (1995) Procedural learning and prefrontal cortex. *Ann. NY Acad. Sci.*, 769: 61-70.
- PASCUAL-LEONE A., CATALA M. D., PASCUAL A. P. (1996a) Lateralized effect of rapid-rate transcranial magnetic stimulation of the prefrontal cortex on mood. *Neurology*, 46: 499- 502.
- PASCUAL-LEONE A., WASSERMANN E. W., GRAFMAN J., HALLETT M. (1996b) The role of the dorsolateral prefrontal cortex in implicit procedural learning. *Experimental Brain Research*, 107 (3): 479-485.
- PASCUAL-LEONE A. e coll. (1996c) Reorganization of human cortical motor output maps following traumatic forearm amputation. *Neuroreport*, 7: 2068-2070.
- PASCUAL-LEONE A., RUBIO B., PALLARDO F., CATALA M. D. (1996d) Beneficial effect of rapid-rate transcranial magnetic stimulation of the left dorsolateral prefrontal cortex in drug-resistant depression. *Lancet*, 348: 233-237.
- PASCUAL-LEONE A., TORMOS J. M., KEENAN J., TARAZONA F., CANETE C., CATALA M. D. (1998) Study and modulation of human cortical excitability with transcranial magnetic stimulation. *J Clin. Neurophysiol.*, 15: 333-343.

- PASCUAL-LEONE A., WALSH V., ROTHWELL J. (2000) Transcranial magnetic stimulation in cognitive neuroscience - virtual lesion, chronometry and functional connectivity. *Current Opinion in Neurobiology*, 10: 232-237.
- PAULSON O. B. e NEWMANN E. A. (1987) Does the release of potassium from astrocyte endfeet regulate blood flow? *Science*, 237: 896-898.
- PAUS T., JECH R., THOMPSON C. J., COMEEAU R., PETERS T., EVANS A. C. (1997) Transcranial magnetic stimulation during positron emission tomography: a new method for studying connectivity of the human cerebral cortex. *Journal of Neuroscience*, 17: 3178-3184.
- PAUS T., CASTRO-ALAMANCOS M. A., PETRIDES M. (2001) Cortico-cortical connectivity of the human mid-dorsolateral frontal cortex and its modulation by repetitive transcranial magnetic stimulation. *Eur J. Neurosci.*, 14(8): 1405-1411.
- PETERSON S. E., CORBETTA M., MIEZIN F. M., SHULMAN G. L. (1994) PET studies of parietal involvement in spatial attention: comparison of different task types. *Can. J. Exp. Psychol.*, 48 (2): 319-338.
- PIVIK R. T., HARMAN K. (1995) A re-conceptualization of EEG alpha activity as an index of arousal during sleep: all alpha is not equal. *J. Sleep Res.*, 4: 131-137.
- PRIDMORE S. (1999) Substitution of rapid transcranial magnetic stimulation treatments for electroconvulsive therapy treatments in a course of electroconvulsive therapy. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*, (in stampa).
- PRIORI A., BERARDELLI A., INGHILLERI M., ACCORSERO N., MANFREDI N. (1994) Motor cortical inhibition and the dopaminergic system. *Brain*, 117: 317-323.
- PROUT A. J., AISEN A. A. (1994) The cortical silent period and amyotrophic lateral sclerosis. *Muscle Nerve*, 17 (2): 690-695.
- PURI B. K., DAVEY N. J., ELLAWAY P. H., LEWIS S. W. (1996) An investigation of motor function in schizophrenia using transcranial magnetic stimulation of the motor cortex. *Br. J. Psychiatry*. 169: 690-695.
- RECHTSCHAFFEN A. e KALES A. (1968), *A manual of Standardized Terminology, Techniques and Scoring System for Sleep Stages of Human Subjects*. Brain Information Service/Brain Research Institute, University of California, Los Angeles.
- REUTENS D. C., BERKOVIC S. F., MACDONELL R. A., BLADIN P. F. (1993) Magnetic stimulation of the brain in generalized epilepsy: reversal of cortical hyperexcitability by anticonvulsants. *Ann. Neurol.*, 34. 351-355.

- RIDDING M. C., INZELBERG R. e ROTHWELL J. C. (1995a) Changes in excitability of motor cortical circuitry in patients with Parkinson's disease. *Ann. Neurol.*, 37: 181-188.
- RIDDING M. C., TAYLOR J. L., ROTHWELL J. C. (1995b) The effect of voluntary contraction on cortico-cortical inhibition in human motor cortex. *J. Physiol.* (London), 487: 541-548.
- RIEMANN D., VELTHAUS S., LAUBENTHAL S., MÜLLER W. E., BERGER M. (1990) REM-suppressing effects of amitriptyline and amitriptyline-N-oxide after acute medication in healthy volunteers: results of two uncontrolled pilot trials. *Pharmacopsychiatry*, 23 (6): 253-258.
- ROMEO S., BERARDELLI A., PEDACE F., INGHILLERI M., GIOVANNELLI M., MANFREDI M. (1998) Cortical excitability in patients with essential tremor. *Muscle Nerve*, 21: 1304-1308.
- RONA S., BERARDELLI A., VACCA L., INGHILLERI M., MANFREDI M. (1997) Alterations of motor cortical inhibition in patients with dystonia. *Movement Disord.*, 13: 118-124.
- RÖSLER K. M., SCHIMD U. D., HESS C. W. (1991) Transcranial magnetic stimulation of the facial nerve: where is the actual excitation site. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.*, 43: 362-368.
- RÖSLER K. M., NIRKKO A. C., RIHS F., HESS C. W. (1994) Motor-evoked response to transcranial brain stimulation persist during cataplexy: a case report. *Sleep*, 17 (2): 168-171.
- ROSSI S., PASQUALETTI P., TECCHIO F., PAURI F., ROSSINI P. M. (1998) Corticospinal excitability modulation during mental simulation of wrist movements in human subjects. *Neurosci. Lett.*, 243 (1-3): 147-151.
- ROSSINI P. M., MARCIANI M. G., CARAMIA M., ROMA V., ZAROLA F. (1984) Nervous propagation along "central" motor pathways in intact man: Characteristics of motor responses to "bifocal" and "unifocal" spine and scalp non-invasive stimulation. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.*, 61:272-286.
- ROSSINI P. M., CARAMIA M. D., ZAROLA F. (1987a) Central motor tract propagation in man: studies with non-invasive, unifocal, scalp stimulation. *Brain Res.*, 66 : 88-100.
- ROSSINI P. M., CARAMIA M. D., ZAROLA F. (1987b) Mechanisms of nervous propagation along central motor pathways: noninvasive evaluation in healthy subjects and in patients with neurological diseases. *Neurosurgery*, 20: 183-191.
- ROSSINI P. M., PARADISO C., ZAROLA F., BERNARDI G., CARAMIA M. D., MARGARI L., FERRARI E. (1991) Brain excitability and long latency muscular arm responses: non-invasive evaluation in healthy and parkinsonian subjects. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.*, 81: 454-465.

- ROSSINI P. M., BARKER A. T., BERARDELLI A. e coll. (1994) Non-invasive electrical and magnetic stimulation of the brain, spinal cord and roots: basic principles and procedures for routine clinical application. Report of an IFCN committee. *Electroencephalogr. clin. Neurophysiol.*, 91: 79-92.
- ROSSINI P. M., ROSSI M. (1998) Clinical applications of motor evoked potentials. *Electroencephalogr. clin. Neurophysiol.*, 106: 180-194.
- ROSSINI P. M., BERARDELLI A., DEUSCHL G., HALLETT M., MAERTENS DE NOORDHOUT A., PAULUS W., PAURI F. (1999) Applications of magnetic cortical stimulation. *Clinical Neurophysiology*, 171-184.
- ROTH C., ACHERMANN P., BORBÉLY A. A. (1999) Alpha activity in the human REM sleep EEG: topography and effect of REM sleep deprivation. *Clinical Neurophysiology*, 110: 632-635.
- ROTHWELL J. C., DAY B. L., THOMPSON P. D., MARSDEN C. D. (1989) Interruption of motor programmes by electrical and magnetic brain stimulation in man. *Prog. Brain Res.*, 80: 467-472.
- ROTHWELL J. C. (1991) Physiological studies of electric and magnetic stimulation of the human brain. *Electroenceph. clin. Neurophysiol. Suppl.*, 43: 29-35.
- ROTHWELL J. C., FERBERT A., CARAMIA M. D., KUJIRAI T., DAY B. L., THOMPSON P. D. (1991) Intracortical inhibitory circuits studied in humans (abstract). *Neurology*, 41 (suppl.1): 192.
- ROTHWELL J. C. (1996) *The use of paired pulse stimulation to investigate the intrinsic circuitry of human motor cortex*. In: "Advances in Magnetic Stimulation. Mathematical Modelling and Clinical Applications", Nilsson J., Panizza M., e Grandori F. (Ed.), PI-ME Press, Pavia, 99-104.
- ROTHWELL J. C., HALLETT M., BERARDELLI A., EISEN A., ROSSINI P., PAULUS W. (1999) Magnetic Stimulation: motor evoked potentials. *Clinical Neurophysiology*, 97-102.
- SCALISE A., PLACIDI F., ROMITI A., DESIATO M. T., TOMBINI M., IZZI F., SPERLI F., MARCIANI M. G. (2001) Effetti della deprivazione di sonno sulla eccitabilità corticale. *Suppl. Bollettino AIMS*, n.1: 227-230.
- SCHULZE-BONHAGE A., KNOTT H. e FERBERT A. (1996) Effects of carbamazepine on cortical excitatory and inhibitory phenomena: a study with paired transcranial magnetic stimulation. *Neurophysiol.*, 99: 267-273.
- SCHWARTZ S., MAQUET P. (2002) Sleep imaging and the neuropsychological assessment of dreams. *Trends in Cognitive Sciences*, 6 (1): 23-30.

- SEIBNER H. R. e coll. (1998) Imaging brain activation induced by long trains of repetitive transcranial magnetic stimulation. *Neuroreport*, 9: 943-948.
- SHARPLEY A. L., COWEN P. J. (1995) Effect of pharmacological treatments on the sleep of depressed patients. *Biol. Psychiatry*, 37 (2): 85-98.
- SHIMIZU A., YAMADA Y., YAMAMOTO J., FUJIKI A., KANEKO Z. (1966) Pathways of descending influence on H reflex during sleep. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, 20: 337-347.
- SIMON N. R., MANSHANDEN I., LOPES DA SILVA F. H. (2000) A MEG study of sleep. *Brain Res.*, 860: 64-76.
- SMITH C. (1995) Sleep states and memory processes. *Behav. Brain Res.*, 69: 137-145.
- SMITH M.T., PERLIS M.L., CHENGSAZI V.U. e coll. (2002) Neuroimaging of NREM sleep in primary insomnia: a Tc-99-HMPAO single photon emission computed tomography study. *Sleep*, 25: 325-35.
- SPIELMAN A.J., ZHANG G., YANG C.M. e coll. (2000) Intracerebral hemodynamics probed by near infrared spectroscopy in the transition between wakefulness and sleep. *Brain Res.*, 866: 313-325.
- STALDER S., RÖSLER K. M., NIKKÖ A. C., HESS C. W. (1995) Magnetic stimulation of the human brain during phasic and tonic REM sleep: recordings from distal and proximal muscles. *J. Sleep Res.*, 4: 65-70.
- STERIADE M., HOBSON J. (1976) Neuronal activity during the sleep-waking cycle. *Prog. Neurobiol.*, 6: 155-376.
- STERIADE M., GLOOR P., LLINAS R. R., LOPES DE SILVA F. H., MESULAM M. M. (1990) Basic mechanisms of cerebral rhythmic activities. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, 76: 481-508.
- STERIADE M. (1993) Central core modulation of spontaneous oscillations and sensory transmission in thalamocortical systems. *Curr. Opin. Neurobiol.*, 3: 619-625.
- STERIADE M., CONTRERAS D., CURRO DOSSI R., NUNEZ A. (1993a) The slow (<1 Hz) oscillation in reticular thalamic and thalamocortical neurons: scenario of sleep rhythm generation in interacting thalamic and cortical networks. *J. Neurosci.*, 13: 3284-3299.
- STERIADE M., MCCORMICK D. A., SEJNOWSKI T. J. (1993b) Thalamocortical oscillations in the sleeping and aroused brain. *Science*, 262: 679-685.
- STERIADE M., NUNEZ A., AMZICA F. A. (1993c) A novel slow (<1 Hz) oscillation of neocortical neurons in vivo: depolarizing and hyperpolarizing components. *J. Neurosci.*, 13: 3252-3265.

- STERIADE M., NUNEZ A., AMZICA F. (1993d) Intracellular analysis of relations between the slow (<1 Hz) neocortical oscillation and other sleep rhythms of the electroencephalogram. *J. Neurosci.*, 13: 3266-3283.
- STERIADE M. e AMZICA F. (1998) Coalescence of sleep rhythms and their chronology in corticothalamic networks. *Sleep Res. Online*, 1: 1-10.
- STERIADE M. (1999) Coherent oscillations and short-term plasticity in corticothalamic networks. *Trends Neurosci.*, 22: 337-345.
- STEWART L. M., BATTELLI L., WALSH V., COWEY A. (1999) Motion perception and perceptual learning studied by magnetic stimulation. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.*, 51: 334-350.
- STERIADE M., TIMOFEEV I., GRENIER F. (2001) Natural waking and sleep states: a view from inside neocortical neurons. *J Neurophysiol.*, 85: 1969-1985.
- STEWART L. M., ELLISON A., WALSH V., COWEY A. (2001) The role of transcranial magnetic stimulation (TMS) in studies of vision, attention and cognition. *Acta psychologica*, 107: 275-291.
- STEWART L. M., FRITH U., MEYER B.-U., ROTHWELL J., TMS over BA37 impairs picture naming. *Neuropsychologia*, (in stampa).
- STICKGOLD R. (1999) Sleep: off-line memory processing. *Trends Cogn. Sci.*, 2: 484-492.
- STOKIC D. S., MCKAY W. B., SCOTT L., SHEWOOD A. M., DIMITRIJEVIC M. R. (1997) Intracortical inhibition of lower limb motor evoked potentials after paired transcranial magnetic stimulation. *Exp. Brain Res.*, 117: 437-443.
- TANAKA H., HAYASHI M., HORI T. (1997) Topographical characteristics and principal component structure of hypnagogic EEG. *Sleep*, 20: 523-534.
- TANJI J., SHIMA K. (1994) Role for supplementary motor area cells in planning several movements ahead. *Nature*, 371 (6496): 413-416.
- TAUB J. M. (1984) Individual variations in the sleep of depression. *Int. J. Neurosci.*, 23 (4): 269-280.
- TERGAU F., WISHER S., PAOLUS W. (1999) Motor system excitability in patients with restless legs syndrome. *Neurology*, 52: 1060-1063.
- THE EUROPEAN DANA ALLIANCE FOR THE BRAIN (2001) *Il sonno. I. Il sonno è un meccanismo regolato*. Magistretti P. J., Blakemore C. C., Iversen L., Singer W., Strata P., Glowinski J., Herschkowitz N. (Ed.), *EuroBrain*, 3 (3), 1-2.

- TIMOFEEV I., CONTRERAS D., STERIADE M. (1996) Synaptic responsiveness of cortical and thalamic neurones during various phases of slow sleep oscillation in cat. *J Physiol.*, 494: 265-278.
- TOGA A., MAZZIOTTA J. C. (1996), *Brain Mapping. The Methods*. Academic Press, San Diego, CA.
- TOKIMURA H., RIDDING M. C., TOKIMURA Y., AMASSIAN V. E. e ROTHWELL J. C. (1996) Short latency facilitation between pairs of threshold magnetic stimuli applied to human motor cortex. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.*, 93: 225-229.
- TRIGGS W. J., MENKES D., ONORATO J., YAN R. S., YOUNG M. S., NEWELL K., SANDER H. W., SOTO O., CHIAPPA K. H., CROS D. (1999) Transcranial magnetic stimulation identifies upper motor neuron involvement in motor neuron disease. *Neurology*, 53 (3): 605-611.
- TROPPER R., MOTTAGHY F., BRUGMAN M., NOTH J., HUBER W. (1998) Facilitation of picture naming by focal transcranial magnetic stimulation. *Exp. Brain Res.*, 121: 371-378.
- UCHIDA S., MALONEY T., MARCH J. D., AZARI R., FEINBERG I. (1991) Sigma (12-15 Hz) and Delta (0.3-3 Hz) EEG oscillate reciprocally within NREM sleep. *Brain Res. Bull.*, 27: 93-96.
- UEDA K., NITTONO H., HAYASHI M. HORI T. (2001) Spatiotemporal changes of slow wave activities before and after 14 Hz/12 Hz sleep spindles during stage 2 sleep. *Psychiatry Clin. Neurosci.*, 55: 183-184.
- UGAWA Y., USESAKA Y., TERAOKA Y., HANAJIMA R., KANAZAWA I. (1995) Magnetic stimulation over the cerebellum in humans. *Ann. Neurol.*, 37: 703-713.
- VALLS-SOLE J., PASCUAL-LEONE A., WASSERMANN E. M., HALLETT M. (1992) Human motor evoked responses to paired transcranial magnetic stimuli. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.*, 85: 355-364.
- VILLRINGER A., THEM A., LINDAUER U., EINHAÜPL K., DIRNAGL U. (1994) Capillary perfusion in the rat brain cortex. An in vivo confocal microscopy study. *Circ. Res.*, 75: 55-62.
- WALSH V., COWEY A. (2000) Transcranial magnetic Stimulation and cognitive neuroscience. *Nature Reviews, Neuroscience*, 1: 73-78.
- WALTERS A. S. (1995) Toward a better definition of the restless legs syndrome. *The International Restless Legs Syndrome Study Group. Mov. Disord.*, 10: 634-642.
- WANG H., WANG X., SCHEICH H. (1996) LTD and LTP induced by transcranial magnetic stimulation in auditory cortex. *Neuroreport*, 7 (2): 521-525.



- WASSERMANN E. M., MCSHANE L. M., HALLETT M., COHEN L. G. (1992) Non-invasive mapping of muscle representations in human motor cortex. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.*, 85: 1-8.
- WASSERMANN E. M., GRAFMAN J., BERRY C., HOLLNAGEL C., WILD K., CLARK K., HALLETT M. (1996a) Use and safety of a new repetitive transcranial magnetic stimulator. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.*, 101: 412-417.
- WASSERMANN E. M., WANG B., ZEFFIRO T. A., SADATO N., PASCUAL-LEONE L. A., TORO C., HALLETT M. (1996b) Locating the motor cortex on the MRI with transcranial magnetic stimulation and PET. *Neuroimage*, 3: 1-9.
- WASSERMAN E. M. (1998) Risk and safety of repetitive transcranial magnetic stimulation: report and suggested guidelines from the International Workshop on the Safety of Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.*, 108: 1-16.
- WERHAHN K. J., TAYLOR J., RIDDING M., MEYER B. U., ROTHWELL J. C. (1996) Effect of transcranial magnetic stimulation over the cerebellum on the excitability of human motor cortex. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.*, 101: 58-66.
- WERTH E., ACHERMANN P., BORBÉLY A. A. (1996a) Fronto-occipital EEG power gradients in human sleep. *J. Sleep Res.*, 6: 102-112.
- WERTH E., ACHERMANN P., BORBÉLY A. A. (1996b) Brain topography of the human sleep EEG: antero-posterior shifts of spectral power. *NeuroReport*, 8: 123-127.
- WERTH E., ACHERMANN P., DIJK D. J., BORBÉLY A. A. (1997) Spindle frequency activity in the sleep EEG: individual differences and topographic distribution. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, 103: 535-542.
- WHALEN P. J., RAUCH S. L., ETCOFF N. L., MCINERNEY S. C., LEE M. B., JENIKE M. A. (1998) Masked presentation of emotional facial expressions modulate amygdala activity without explicit knowledge. *J. Neurosci.*, 18: 411-418.
- WOOLF N. J., BUTCHER L. L. (1989) *Cholinergic systems: Synopsis of anatomy and overview of physiology and pathology*. In: "The Biological Substrates of Alzheimer's Disease", Scheibel A. B. e Wechsler A. F. (Ed.), Academic Press, 73-86.
- WU T., CHU N. S. (1996) Recovery patterns of motor and somatosensory evoked potentials following treatment of vitamin B12 deficiency. *J. Formos. Med. Assoc.*, 2: 157-161.
- YAROSLAVSKY Y., GRISARU N., CHUDAKOV B., BELMAKER R. H. (1999) *Is TMS therapeutic in mania as well as in depression?* In: "Transcranial Magnetic Stimulation" (EEG Suppl. 51), Paulus W., Hallett M., Rossini P. M., Rothwell J. C. (Ed.), Elsevier Science B. V., 299-303.

- ZEITHLHOFFER J., GRUBER G., ANDERER P., ASENBAUM S., SCIMICEK P., SALETU B. (1997) Topographic distribution of sleep spindles in young healthy subjects. *J. Sleep Res.*, 6: 149-155.
- ZIEMANN U., LÖNNECKER S., PAULUS W. (1995) Inhibition of human motor cortex by ethanol. A transcranial magnetic stimulation study. *Brain*, 118: 1437-1446.
- ZIEMANN U., BRUNS D., PAULUS W. (1996a) Enhancement of human motor cortex inhibition by the dopamine receptor agonist pergolide: evidence from transcranial magnetic stimulation. *Neurosci. Lett.*, 208: 187-190.
- ZIEMANN U., LÖNNECKER S., STEINHOFF B. J., PAULUS W. (1996b) Effects of antiepileptic drugs on motor cortex excitability in humans: a transcranial magnetic stimulation study. *Ann. Neurol.*, 40: 367-378.
- ZIEMANN U., LÖNNECKER S., STEINHOFF B. J., PAULUS W. (1996c) The effect of lorazepam on the motor cortical excitability in man. *Exp. Brain Res.*, 109: 127-135.
- ZIEMANN U., ROTHWELL J. C., RIDDING M. C. (1996d) Interaction between intracortical inhibition and facilitation in human motor cortex. *J. Physiol. (Lond.)*, 496: 873-881.
- ZIEMANN U., TERGAU F., BRUNS D., BAUDEWIG J., PAULUS W. (1997) Changes in human motor cortex excitability induced by dopaminergic and anti-dopaminergic drugs. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.*, 105: 430-437.
- ZIEMANN U., CHEN R., COHEN L. G., HALLETT M. (1998a) Dextromethorphan decreases the excitability of the human motor cortex. *Neurology*, 51: 1320-1324.
- ZIEMANN U., TERGAU F., WASSERMANN E. M., WISCHER S., HILDEBRANDT J., PAULUS W. (1998b) Demonstration of facilitatory I-wave interaction in the human motor cortex by paired transcranial magnetic stimulation. *J. Physiol. (Lond.)*, 511: 181-190.
- ZIEMANN U., TERGAU F., WISCHER S., HILDEBRANDT J., PAULUS W. (1998c) Pharmacological control of facilitatory I-wave interaction in the human motor cortex. A paired transcranial magnetic stimulation study. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.*, 109: 321-330.
- ZIEMANN U., CORWELL B., COHEN L. G. (1998d) Modulation of plasticity in human motor cortex after forearm ischemic nerve block. *J. Neurosci.*, 18: 1115-1123.
- ZIEMANN U. (1999) Intracortical inhibition and facilitation in the conventional paired TMS paradigm. *Clinical Neurophysiology*, Suppl. 51: 127-134.
- ZIEMANN U. (2002) *Paired pulse techniques*. In: "Handbook of Transcranial Magnetic Stimulation", Pascual-Leone A., Dwyer N. J., Rothwell J., Wassermann E. M., Puri B. K., (Ed.), London, Arnold: 141-162.

- ZOCCOLI G., LUCCHI M. L. ANDREOLI E., BACH V., CIANCI T., LENZI P., FRANZINI C.  
(1996) Brain capillary perfusion during sleep. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, 16: 1312-1318.
- ZYGIEREWICZ J., BLINOWSKA K. J., DURKA P. J., SZELENBERGER W., NIEMCEWICZ S.,  
ANDROSIUK W. (1999) High resolution study of sleep spindles. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, 40: 666-670.