



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

Dipartimento di Psicologia Generale

Corso di Laurea Magistrale in Neuroscienze Cognitive e Riabilitazione Neuropsicologica

Tesi di Laurea Magistrale

Il ruolo della stimolazione acustica durante il sonno sull'apprendimento di non parole: uno studio con polisomnografia portatile

*The role of acoustic stimulation during sleep on learning non-words: a portable
polysomnography study*

Relatore:
Prof. Nicola Cellini

Laureanda: Angie Baldassarri
Matricola: 2048554

Anno Accademico: 2022/2023

INDICE

INTRODUZIONE	4
1. IL SONNO	6
1.1 Caratteristiche del sonno	6
1.2 Sonno NREM	8
1.2.1 Onde del sonno NREM	9
1.3 Misurazione del sonno	11
1.3.1 Polisonnografia (PSG)	11
1.3.2 Dreem Headband	13
2. RELAZIONE TRA SONNO E MEMORIA	16
2.1 La memoria	16
2.1.1 Sistemi di memoria	17
2.2 Processi di memoria	19
2.3 Ruolo del sonno nel consolidamento della memoria	22
2.3.1 Ipotesi del consolidamento di sistema attivo	25
2.3.2 Ipotesi dell'omeostasi sinaptica	27
2.3.3 Modello integrativo	29
2.4 Relazione tra sonno e memoria dichiarativa	30
2.4.1 Memoria dichiarativa e <i>spindles</i>	33
2.4.2 Memoria dichiarativa e oscillazioni lente	34
2.5 Stimolazione non invasiva del sonno	36
2.5.1 <i>Targeted memory reactivation</i> (TMR)	36
2.5.2 Stimolazione ritmica	37
2.5.3 <i>Closed-loop auditory stimulation</i> (CLAS)	38
3. LA RICERCA	41
3.1 Introduzione	41
3.2 Metodo	43
3.2.1 Partecipanti	43
3.2.2 Strumenti di misurazione	43
3.2.3 <i>Task</i>	44
3.2.4 Procedura	45

3.2.5	Analisi statistiche	48
3.3	Risultati	50
3.3.1	Partecipanti	50
3.3.2	Vigilanza	51
3.3.3	Andamento prestazione mnestica	52
3.3.4	Prestazione mnestica	53
3.3.5	Macrostruttura del sonno ed effetti della stimolazione	58
3.3.6	Correlazioni esplorative	60
3.4	Discussione e Conclusioni	61
	BIBLIOGRAFIA	67

INTRODUZIONE

Nonostante la sua importanza nella nostra vita, non esiste una definizione generale del sonno. Esso potrebbe essere definito come uno stato dell'individuo caratterizzato da cambiamenti sul piano comportamentale e fisiologico. Dal punto di vista comportamentale il sonno è caratterizzato da una ridotta mobilità, una ridotta risposta a stimoli esterni e maggiori tempi di reazione, un' aumentata soglia di *arousal* e da uno stato di incoscienza reversibile (Chokroverty, 2010).

Una delle domande maggiormente poste dagli studiosi del sonno è proprio quale sia la sua funzione. Infatti, è indubbia l'importanza del sonno nella vita degli organismi: non solo per gli esseri umani, i quali passano circa un terzo della loro vita a dormire, ma anche per tutti gli altri esseri viventi, dai mammiferi alla *Drosophila melanogaster* (moscerino della frutta).

Per studiare l'importanza del sonno sono stati condotti degli esperimenti in cui dei topi venivano privati del sonno. È stato notato come questi morivano più velocemente che se fossero stati privati del cibo.

Una delle possibili funzioni del sonno può essere evidenziata osservando le differenze nelle ore di sonno degli animali: quelli più grandi hanno bisogno di poche ore di sonno, mentre gli animali più piccoli dormono di più. Una possibile spiegazione è che gli animali più piccoli hanno un metabolismo più veloce e una temperatura corporea maggiore, producendo così più radicali liberi che possono danneggiare le cellule. Durante il sonno invece la temperatura si abbassa e il metabolismo rallenta, permettendo a questi animali di riparare le cellule (Siegel, 2003).

Il sonno, quindi, ha diverse funzioni: di ristorazione delle risorse energetiche, conservazione dell'energia, adattamento, termoregolazione, regolazione metabolica, riparazione dei tessuti, potenziamento del sistema immunitario e di consolidamento della memoria (Chokroverty, 2010; Rasch & Born, 2013).

In questa tesi ci si concentrerà proprio su quest'ultima funzione del sonno: il consolidamento della memoria, con una particolare attenzione alla memoria dichiarativa. Nello specifico, si investigheranno le conseguenze della manipolazione del consolidamento della memoria durante il sonno, attraverso l'utilizzo di una stimolazione acustica.

Il primo capitolo verterà sui meccanismi che regolano il sonno, sugli stadi che compongono la sua architettura e sulle loro caratteristiche elettrofisiologiche. Infine, verranno approfondite

le varie tecniche di misurazione del sonno, tra cui alcune tecniche innovative ed ecologiche che permettono di studiare il sonno da casa del partecipante.

Nel secondo capitolo ci si concentrerà sulla relazione tra sonno e memoria. Si partirà da una descrizione della memoria e dei suoi processi, concentrandosi sulla memoria dichiarativa. Verranno illustrate le principali ipotesi che tentano di spiegare il ruolo del sonno nel consolidamento della memoria. Successivamente, si approfondirà la relazione tra la memoria dichiarativa e alcune componenti elettrofisiologiche del sonno, come le oscillazioni lente e gli *spindles*. Infine, si parlerà delle diverse tecniche non-invasive implementate recentemente per la stimolazione del sonno.

Il terzo capitolo sarà dedicato alla presentazione della ricerca svolta per indagare l'effetto dell'applicazione di una stimolazione acustica durante il sonno sull'apprendimento di non-parole. Infine, verranno illustrate la discussione e le conclusioni riguardo i risultati ottenuti dallo studio.

CAPITOLO 1

IL SONNO

1.1 Caratteristiche del sonno

Quasi tutte le specie mostrano dei cambiamenti comportamentali e fisiologici durante il corso della giornata. Questi cambiamenti sono il risultato di una sorta di orologio biologico interno, chiamato ritmo circadiano e della sua interazione con l'ambiente esterno ed interno. Il ritmo circadiano è un ritmo fisiologico e comportamentale di circa 24 ore, capace di sincronizzarsi con l'ambiente esterno. Un esempio di questi segnali esogeni (chiamati *Zeitgeber*) con i quali l'orologio biologico si sincronizza è l'alternarsi di luce e di buio. Tuttavia, se isolato dall'ambiente esterno, questo orologio endogeno presenta un ritmo autonomo di circa 25 ore (chiamato *free-running*) (Vitaterna et al., 2001).

Un tipo di cambiamento che avviene negli esseri viventi durante il corso della giornata è l'alternarsi del sonno e della veglia, chiamato anche ciclo sonno-veglia. Esso è principalmente regolato da due processi: il processo S, un processo omeostatico che promuove il sonno, e il processo C, un processo che è regolato dal ritmo circadiano (Harding & Feldman, 2008).

Il processo S fa sì che il bisogno di dormire si accumuli durante le ore di veglia, dissipandosi poi durante la notte, in cui invece aumenta sempre di più l'allerta, guidata dal processo C. Il processo S è regolato dai neuroni dell'ipotalamo che inibiscono il sistema di arousal durante il sonno. Questo processo può essere influenzato sia da informazioni che riguardano lo stato corporeo provenienti dal tronco encefalico, sia da informazioni di tipo emotivo o cognitivo che provengono da aree superiori.

Il processo C, controllato dal ritmo circadiano, regola la propensione alla veglia e al sonno. Oltre a controllare il ritmo sonno-veglia, il ritmo circadiano regola anche l'attività fisica, il consumo di cibo, la temperatura corporea, il battito cardiaco e la secrezione di ormoni. Per quanto riguarda la regolazione del ritmo sonno-veglia, il ritmo circadiano è generato dai neuroni del nucleo soprachiasmatico dell'ipotalamo, che ricevono informazioni dalle cellule della retina riguardo la luminosità esterna. Dopodiché, il nucleo soprachiasmatico manda degli output al nucleo dorsomediale dell'ipotalamo, il quale segnala al sistema sonno-veglia di coordinarsi con il ciclo luce-buio. Un altro output principale del nucleo soprachiasmatico viene inviato ad un'area che controlla, soprattutto durante la notte, la secrezione di melatonina, un ormone prodotto dall'epifisi per il controllo del ritmo sonno-veglia. Perciò questi ritmi circadiani

fungono da orologi biologici, modulando tutta una serie di attività fisiologiche e comportamentali, come il ritmo sonno-veglia, a seconda del ciclo luce-buio. Se il processo C non fosse presente, l'essere umano avrebbe bisogno della stessa quantità di sonno che necessita attualmente, ma sarebbe distribuita in maniera casuale tra il giorno e la notte (Harding & Feldman, 2008).

Il sonno è caratterizzato da tre fasi principali che si ripetono ciclicamente: la veglia, il sonno NREM e il sonno REM. Un adulto in media compie dai 4 ai 6 cicli di sonno per notte, ognuno della durata dai 90 ai 110 minuti circa. Il sonno NREM è composto, a sua volta, da tre stadi: N1, N2 e N3. I primi due stadi costituiscono un sonno più leggero, mentre in N3 il sonno è più profondo. Solitamente nell'adulto i cicli del sonno che si susseguono nell'arco di una notte non sono uguali tra di loro. Infatti, la prima parte del sonno è caratterizzata maggiormente dal sonno NREM, in particolare da N3, mentre nella seconda parte, a mano a mano che ci avviciniamo alla veglia, lo stadio 3 del sonno NREM diminuisce, e aumenta la porzione di tempo passata in sonno REM. Oltre a variare nel corso della notte, il ciclo del sonno cambia la sua architettura anche nel corso della vita. Ad esempio, i neonati dormono all'incirca 16 ore al giorno seguendo un pattern polifasico, ovvero suddiviso nell'arco della giornata. Inoltre, di queste 16 ore il 50% è costituito da sonno REM. Gli adulti invece dormono in media 8 ore al giorno seguendo un pattern monofasico in cui prevale il sonno NREM (circa il 75-80%). Negli anziani, invece, il pattern di sonno diventa spesso bifasico poiché è caratterizzato da un aumento dei periodi di veglia, una riduzione del sonno REM e dello stadio N3 del NREM, trascorrendo così gran parte della notte in sonno leggero (Chokroverty, 2010).

Durante le diverse fasi del sonno avvengono anche dei cambiamenti fisiologici che interessano il sistema nervoso autonomo. Il sistema nervoso simpatico diminuisce la sua attività nel sonno NREM, mentre nel sonno REM decresce o è variabile. Si osserva invece un aumento dell'attività, rispetto alla veglia, del sistema nervoso parasimpatico in entrambe le fasi del sonno. Durante il sonno NREM si ha una diminuzione del battito cardiaco, della pressione sanguigna e della respirazione, mentre nel sonno REM esse sono variabili. La variabilità di questi indici nel sonno REM potrebbe spiegare perché le persone con patologie cardiovascolari hanno un maggiore rischio di infarto del miocardio nelle prime ore del mattino. La termoregolazione è presente durante il sonno NREM, ma assente durante il sonno REM. Il sonno REM è caratterizzato da movimenti oculari rapidi, come suggerito dal nome "*rapid eye movement*", mentre il NREM è costituito da movimenti oculari più lenti, almeno all'inizio, e assenti a mano a mano che il sonno diventa più profondo. I movimenti corporei invece sono ridotti nel NREM e molto ridotti o assenti nel REM, questo per evitare eccessivi movimenti da

parte della persona in una fase del sonno caratterizzata spesso da sogni vividi. Infine, per quanto riguarda l'attività cerebrale, nel sonno NREM essa è sincronizzata, mentre nel sonno REM l'attività è desincronizzata, simile a quella nella veglia (Chokroverty, 2010; Harding & Feldman, 2008).

1.2 Sonno NREM

Come già accennato, il sonno NREM costituisce gran parte del sonno dell'adulto ed è indubbiamente una parte fondamentale del sonno. Esso è costituito da tre stadi: N1, N2 e N3 che ora si andranno ad approfondire (Figura 1.1).

Lo stadio N1 ha un ruolo di transizione dallo stato di veglia a quello di sonno e dura da 1 a 7 minuti circa in adulti sani. È lo stadio caratterizzato dal sonno più leggero; infatti, può essere facilmente interrotto da stimoli esterni. Per quanto riguarda l'attività cerebrale, esso è caratterizzato da un passaggio dalle onde alfa (8-11 Hz), tipiche della veglia riposata, a onde a basso voltaggio e frequenze diverse, fino ad arrivare alle onde theta (4-7.5 Hz).

Lo stadio N2 invece dura dai 10 ai 25 minuti circa nel primo ciclo, per poi aumentare nei cicli successivi. In un uomo adulto lo stadio 2 può arrivare anche a costituire circa il 50% del sonno di una notte e svegliarsi in questo stadio per stimoli esterni diventa più difficile. Anche qui l'attività cerebrale è caratterizzata da frequenze diverse e dalla presenza di fusi del sonno, traduzione dell'inglese *sleep spindles* (11-15 Hz), e complessi K. Di queste due onde si parlerà meglio più avanti, ma è importante sapere che gli *spindles* sembrano avere un importante ruolo nel consolidamento della memoria.

Lo stadio N3 occorre maggiormente nella prima parte della notte e in questa fase la soglia di arousal raggiunge il massimo, è perciò molto difficile che la persona venga svegliata da stimoli esterni. Questo stadio è anche chiamato *slow-wave sleep* (SWS) poiché è caratterizzato da onde a bassa frequenza ma ad alto voltaggio, come le onde lente che comprendono le oscillazioni lente (<1 Hz) e le onde delta (1-4.5 Hz) (Adamantidis et al., 2019; Harding & Feldman, 2008).

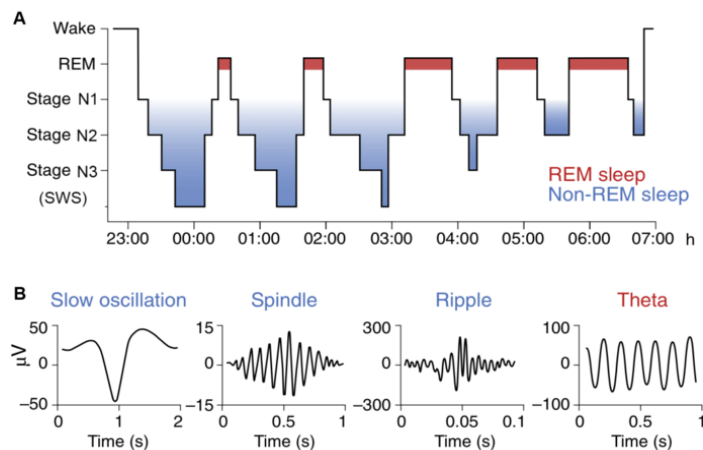


Figura 1.1 Architettura del sonno e oscillazioni del sonno: A. Architettura del sonno umana. B. Oscillazioni lente, *spindles* e *ripples* tipiche del sonno NREM e onde theta visibili nel sonno REM, soprattutto nei roditori. Tratto da Klinzing et al., (2019).

1.2.1 Onde del sonno NREM

Le onde che maggiormente caratterizzano il sonno NREM sono: le onde lente, gli *spindles*, i complessi K e gli *sharp wave-ripples* (Figura 1.2).

Le oscillazioni lente, che fanno parte delle onde lente, vengono generate da reti nella corteccia prefrontale e si muovono principalmente dalle regioni anteriori verso quelle posteriori, raggiungendo anche strutture sottocorticali come l'ippocampo. Le oscillazioni lente sono costituite da un *down-state* e da un *up-state*. Il primo riflette l'iperpolarizzazione dei neuroni corticali e talamici, e quindi uno stato di inattività neuronale. Il secondo riflette invece la depolarizzazione neuronale, e quindi un'attivazione dei neuroni talamocorticali, sia eccitatori che inibitori. L'alternanza degli *up-state* e *down-state* durante lo SWS genera queste oscillazioni lente a <1 Hz. Rilevante è anche il fatto che studi su uomini hanno trovato una relazione causale tra oscillazioni lente e consolidamento della memoria (Adamantidis et al., 2019; Diekelmann & Born, 2010; Klinzing et al., 2019).

Gli *spindles* sono delle oscillazioni con un'ampiezza inizialmente crescente che diventa a mano a mano decrescente, di breve durata (0.5-2 s) e con una frequenza che varia dagli 11 ai 15 Hz. Essi vengono generati nel talamo, da un'interazione tra i neuroni GABAergici del nucleo reticolare e altri nuclei talamici. Gli *spindles* raggiungono l'ippocampo e la corteccia cerebrale, quest'ultima attraverso delle fibre talamocorticali. Nella corteccia gli *spindles* sono localizzati principalmente nelle aree centrali e parietali, al contrario delle oscillazioni lente che sono più estese (Klinzing et al., 2019). Gli *spindles* sono presenti sia nello stadio 2 del sonno NREM che

nello stadio 3. Tuttavia, in quest'ultimo stadio sono stati osservati degli *spindles* più lenti (8-12 Hz), che si verificano maggiormente nelle aree frontali della corteccia (Adamantidis et al., 2019).

I complessi K sono delle oscillazioni lente (<1 Hz) che si verificano solitamente durante lo stadio 2 del NREM. Il complesso K è costituito da due fasi: un'onda positiva, dovuta ad una depolarizzazione dei neuroni corticali, e una negativa, che rappresenta l'iperpolarizzazione dei neuroni. Essi sono periodici ma la loro forma e frequenza cambia a mano a mano che il sonno si fa più profondo (Amzica & Steriade, 2002). I complessi K sono generati dalle oscillazioni lente che avvengono nella corteccia. Essi sono nella maggior parte dei casi spontanei, ma possono anche essere provocati da stimoli esterni (uditivi, tattili, somatosensoriali) o interni (come l'interruzione della respirazione) (Adamantidis et al., 2019). Una loro funzione è quella di innescare altre oscillazioni, come le onde delta e gli *spindles* (Amzica & Steriade, 2002).

Gli *sharp wave-ripples* sono delle oscillazioni che avvengono durante lo SWS, ma anche durante la veglia riposata (Klinzing et al., 2019) e sono costituiti da due componenti: gli *sharp wave*, che sono dei potenziali depolarizzanti transitori e i *ripples*, che sono delle oscillazioni periodiche veloci (150-200 Hz) che si sovrappongono alle prime. Gli *sharp-wave ripples* vengono generati principalmente nell'area CA1 dell'ippocampo, ma sono stati osservati anche in altre regioni dell'ippocampo (ad esempio in CA3, nel subicolo e nella corteccia entorinale) sia tramite studi sui roditori, che anche su primati non umani e umani. Più precisamente gli *sharp wave* vengono generati dai neuroni in CA3 che mandano una scarica a quelli in CA1. Invece i *ripples* sono generati da un'interazione tra i circuiti eccitatori e inibitori in CA1 e quelli in CA3. Inoltre, i *ripples* ippocampali possono essere attivati anche dai *down-state* degli *spindles* corticali (Adamantidis et al., 2019).

Più avanti si parlerà di come le onde appena presentate, in particolare le oscillazioni lente, gli *spindles* e i *ripples*, possono appaiarsi, innestandosi l'una nell'altra, durante lo SWS. Questo appaiamento è di grande importanza per il consolidamento della memoria durante il sonno.

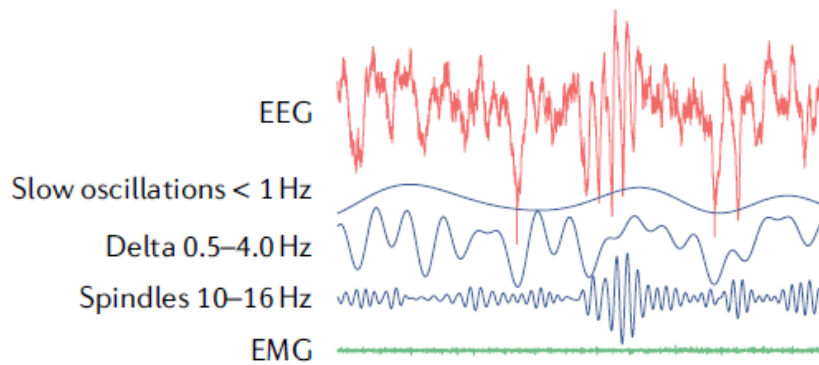


Figura 1.2 EEG, EMG ed oscillazioni tipiche del sonno NREM. Adattato da Adamantidis et al., (2019).

1.3 Misurazione del sonno

La principale procedura utilizzata per misurare parametri fisiologici durante il sonno è la polisonnografia. Essa è anche considerata il gold standard, ovvero il miglior strumento di misurazione, per la diagnosi di disturbi respiratori durante il sonno (Rundo & Downey III, 2019).

Un dispositivo apparso recentemente per lo studio del sonno è il Dreem Headband (DH); una fascia da indossare sul capo che può essere utilizzata in un *setting* domestico. Il DH è uno strumento di registrazione comodo e facile da usare per il soggetto, inoltre, secondo uno studio (Arnal et al., 2020) fornisce un'elevata accuratezza sia nell'acquisizione del segnale fisiologico che nell'analisi automatica degli stadi del sonno.

1.3.1 Polisonnografia (PSG)

Le sue origini risalgono al 1875, quando Caton scoprì la presenza di attività elettrica nel cervello degli animali. Questa scoperta portò dunque Berger a fare la prima misurazione con un elettroencefalogramma (EEG) su un essere umano nel 1929, e quindi a descrivere le differenze tra veglia e sonno. Andando avanti, molti lavori negli anni '50 si rivelarono importanti per la polisonnografia (PSG). Infatti, si stabilì l'importanza di combinare l'EEG ad altri strumenti, come l'elettromiogramma (EMG) e l'elettro-oculogramma (EOG), per distinguere meglio la veglia dal sonno e i diversi stadi del sonno (Rundo & Downey III, 2019).

I parametri principali per determinare i diversi stadi del sonno sono tre: l'EEG, che è il principale e l'EMG e l'EOG, che possono aggiungere informazioni (Vaughn & Giallanza,

2008). Ad oggi la PSG (Figura 1.3), oltre ad essere costituita dai tre parametri sopraccitati, comprende anche l'elettrocardiogramma (ECG), il saturimetro, per misurare l'ossigenazione del sangue, e lo sforzo respiratorio, principalmente utilizzato in ambito clinico o qualora ci trovassimo con soggetti con disturbi del sonno (Rundo & Downey III, 2019).

L'EEG registra l'attività elettrica della corteccia cerebrale. Questa attività elettrica risulta dalla somma dei potenziali post-sinaptici della corteccia, è perciò una misurazione diretta dell'attività cerebrale. L'EEG è composto da elettrodi che vanno posti sullo scalpo secondo un sistema di posizionamento. Il più comune è il sistema internazionale 10-20, in cui si prendono come punto di riferimento il nasion e l'inion: il primo è l'avvallamento tra naso e fronte e il secondo è una protuberanza alla base del cranio. Dopodiché da questi due punti viene misurata la lunghezza del cranio. Le posizioni degli elettrodi sono determinate dividendo queste lunghezze in intervalli del 10% e 20% del valore totale. Questo sistema permette un posizionamento simile degli elettrodi tra individui con forme del cranio diverse. Per una corretta registrazione del segnale l'impedenza, ovvero la resistenza che un materiale pone al passaggio della corrente elettrica, deve essere sotto i 5 kOhm. Per accertarci di ciò si deve prima attuare una dermoabrasione della pelle, in modo da eliminare le cellule morte, e poi applicare un gel o una pasta conduttiva per promuovere un buon passaggio di corrente (Vaughn & Giallanza, 2008).

L'EEG ci permette quindi di distinguere i diversi stadi del sonno attraverso le varie onde che li caratterizzano. Infatti, le onde cerebrali possono essere descritte in frequenza, ampiezza, durata e area del cervello in cui si originano o in cui sono più visibili. A mano a mano che il sonno diventa più profondo la frequenza delle onde diminuisce e la loro ampiezza aumenta, passando così dalle onde alfa (8-11 Hz) alle onde lente (0.5-4.5 Hz).

L'EOG è uno strumento che registra l'attività elettrica derivata dai movimenti oculari. Attraverso l'EOG è possibile cogliere i movimenti verticali e laterali degli occhi. Esso è importante poiché ci permette di determinare il passaggio tra veglia e sonno e soprattutto il sonno REM, caratterizzato da rapidi movimenti oculari (Vaughn & Giallanza, 2008).

L'EMG rappresenta un ulteriore strumento di supporto, insieme all'EOG, per la discriminazione dei vari stadi del sonno. L'EMG, infatti, misura il tono muscolare attraverso l'attività elettrica generata dalla depolarizzazione delle membrane delle fibre muscolari. Quest'attività elettrica solitamente è maggiore di 30 Hz e viene registrata attraverso degli elettrodi posti 2 cm sotto l'angolo inferiore della mandibola. L'EMG è utile soprattutto per distinguere la veglia dal sonno REM: il tono muscolare diminuisce gradualmente con

l'avanzare degli stadi del sonno NREM, mentre molti muscoli sono atonici durante il REM (Vaughn & Giallanza, 2008).

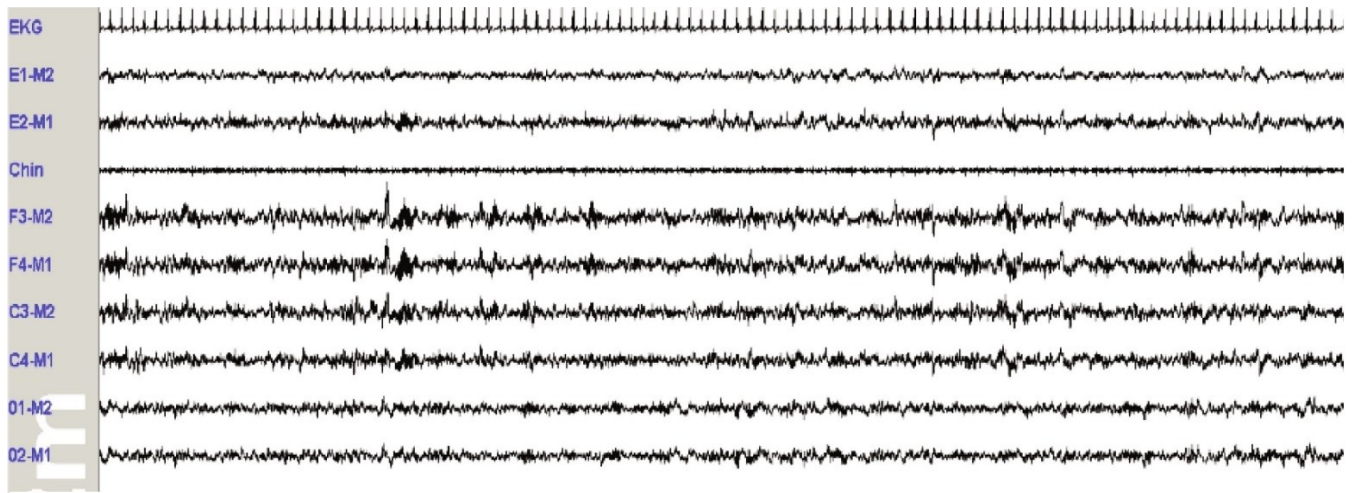


Figura 1.3 Tracciato digitale di PSG durante lo stadio 2 del sonno NREM. Adattato da Rundo & Downey III, (2019).

Nonostante la PSG sia il *gold standard* per lo studio del sonno, sono stati riscontrati diversi limiti dal punto di vista pratico. Innanzitutto, la PSG richiede molto tempo per l'installazione, che deve essere condotta da personale addestrato. Inoltre, potrebbe non rappresentare il tipico sonno di un soggetto o paziente per diversi motivi: la PSG è ingombrante, il *setting* del laboratorio potrebbe causare stress alla persona, e solitamente viene condotta solo per una notte, non permettendo così di catturare le differenze intra-individuali del sonno di un soggetto. Da un punto di vista metodologico la PSG ha anche una bassa validità tra valutatori per quanto riguarda la valutazione dei diversi stadi del sonno.

Per cercare di ovviare a queste limitazioni, negli ultimi anni, sono state create delle polisomnografie automatiche in cui viene usata l'intelligenza artificiale per classificare i diversi stadi del sonno con maggiore accuratezza. In questo modo si risolve il problema della bassa validità tra valutatori, in quanto al posto di utilizzare un solo valutatore per discriminare gli stadi del sonno, le *machine learning* vengono addestrate utilizzando diversi valutatori.

1.3.2 Dreem Headband

Negli ultimi anni sono aumentate le tecnologie portatili per il tracciamento del sonno. Inizialmente venivano utilizzati gli attigrafici. Essi sono costituiti da accelerometri che misurano

i movimenti dell'individuo, monitorando l'attività fisica, il tempo di sedentarietà e il ciclo sonno-veglia. Permettono una misurazione direttamente a casa del soggetto, quindi in ambienti più ecologici, e sono adatti per studi longitudinali. L'attigrafo però ha una bassa precisione nel differenziare il sonno da una veglia caratterizzata da un'assenza di movimenti, portando così ad una sovrastima del tempo totale di sonno e ad una sottostima del tempo di veglia dopo che la persona si è messa a letto (Arnal et al., 2020). Questo fa sì che l'attigrafo non sia una buona alternativa alla PSG per differenziare gli stadi del sonno, perché manca una componente fondamentale, ovvero gli elettrodi per il monitoraggio dell'attività elettrica.

Solo recentemente sono emersi dei nuovi dispositivi per il monitoraggio del sonno direttamente da casa, che utilizzano anche degli elettrodi per misurare l'attività cerebrale. Questi dispositivi sono costituiti da una fascia e sono, rispetto alla PSG, meno costosi, meno ingombranti, adatti ad essere utilizzati in studi longitudinali per diverse notti consecutive e non richiedono la supervisione di un esperto (Arnal et al., 2020).

Uno di essi è proprio il Dreem Headband: una fascia wireless da indossare sul capo, in grado di registrare, archiviare ed analizzare automaticamente dati EEG, attraverso un algoritmo di *deep learning*. Dopo la registrazione, il DH viene connesso ad un dispositivo mobile (es. *smartphone*) che trasporta all'applicazione, tramite *Bluetooth*, i dati acquisiti durante la notte e trasferisce, tramite wi-fi, i dati grezzi ai server.

Il DH registra cinque tipi di segnali fisiologici diversi: l'attività cerebrale attraverso degli elettrodi EEG, i movimenti, la posizione del corpo e la frequenza respiratoria attraverso un accelerometro 3D posizionato sopra la testa, e la frequenza cardiaca attraverso un pulsossimetro a infrarossi posto sulla fascia frontale. Gli elettrodi EEG sono cinque: F7, F8 e FpZ posti sulla fascia frontale, O1 e O2, elettrodi per la registrazione dell'attività occipitale posti nella fascia posteriore (Figura 1.4). Sulla fascia frontale è presente anche un sistema audio che invia suoni tramite conduzione ossea. Infatti, il DH, attraverso l'algoritmo, può rilevare una fase precisa del sonno in cui inviare degli stimoli sonori (*pink noise*). Questa funzionalità e il suo scopo verranno approfondite più avanti.

Gli elettrodi EEG sono costituiti da silicone ad alta consistenza con sporgenze morbide e flessibili sulla fascia posteriore, in modo da registrare il segnale dal cuoio capelluto. Il DH è composto da gommapiuma rivestita di tessuto e da una fascia elastica sulla parte posteriore, in modo da renderlo adattabile (Arnal et al., 2020).

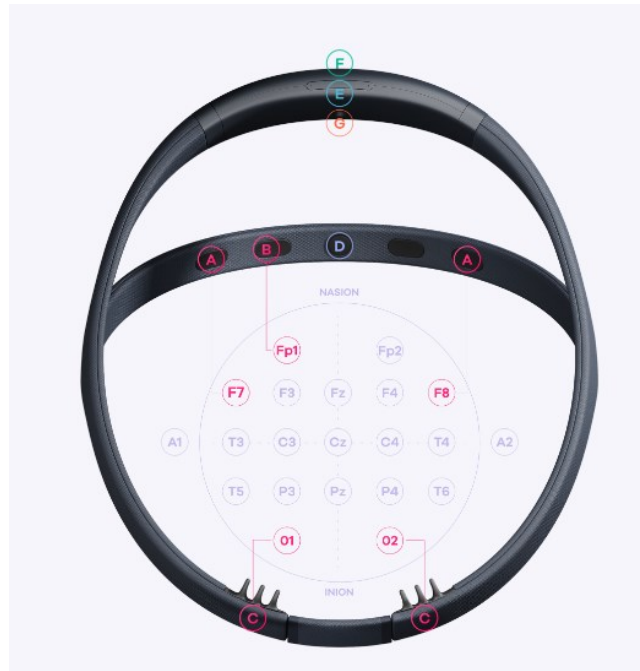


Figura 1.4 Dreem Headband. A: elettrodi F7 e F8. B: elettrodo FpZ. C: elettrodi O1 e O2. D: sistema audio. E: accelerometro 3D. F: bottone di spegnimento. G: porta magnetica per la carica.

Attraverso l'analisi dei dati il DH permette di calcolare i seguenti parametri (Arnal et al., 2020):

- Il tempo (minuti) trascorso a letto, cioè da quando le luci vengono spente a quando vengono accese (TIB)
- Il tempo totale effettivo (minuti) di sonno (TST)
- L'efficienza del sonno (%), dato dal rapporto tra il tempo effettivo di sonno e il tempo trascorso a letto: $TST/TIB \times 100$
- Il tempo di addormentamento, ovvero da quando le luci vengono spente alle prime tre epoche consecutive di uno stadio del sonno (SOL)
 - Il tempo trascorso in veglia dopo essersi addormentati (WASO)
 - Il tempo di sonno effettivo (TST) trascorso (in minuti e percentuale) in ogni stadio del sonno (N1, N2, N3 e REM)

CAPITOLO 2

RELAZIONE TRA SONNO E MEMORIA

2.1 La memoria

La memoria è il risultato dell'apprendimento, ovvero del processo di acquisizione di nuove informazioni (Gazzaniga et al., 2018).

Poter formare e mantenere delle memorie è un'abilità di grande importanza per tutti gli esseri viventi, permettendo loro di adattare il comportamento in base alle richieste di un ambiente in continuo cambiamento (Rasch & Born, 2013).

Per molti anni si è pensato alla memoria come ad una funzione unitaria, tuttavia, attraverso gli studi di Milner (1962), si dimostrò che ci sono diversi tipi di memoria, chiamati poi sistemi, che hanno funzioni diverse e che sottostanno a differenti circuiti cerebrali. Milner (1962) si interessò ad H.M., un paziente che, a seguito di un intervento al lobo temporale mediale bilaterale, cominciò a soffrire di amnesia anterograda, ovvero non riusciva a memorizzare nuove informazioni. Tuttavia, egli riusciva ad apprendere nuove abilità, sebbene i giorni successivi non ricordasse l'esperienza vissuta. Ad esempio, il paziente riusciva ad apprendere un nuovo compito, come il mirror drawing task, che consisteva nell'imparare a disegnare delle forme geometriche guardando allo specchio. A lungo andare, si iniziò a comprendere che negli amnesici erano preservati molti tipi di memoria, come le abilità motorie, il priming, il condizionamento e l'apprendimento non associativo (Squire, 2004).

Alcuni tipi di informazioni possono essere mantenute per breve tempo, mentre altre vengono ricordate per tutta la vita. I sistemi di memoria possono essere suddivisi a seconda della loro persistenza e della nostra consapevolezza durante l'acquisizione. In questo modo abbiamo: la memoria sensoriale, che può durare da qualche millisecondo a qualche secondo e di cui non siamo consapevoli, la memoria a breve-termine e la memoria di lavoro, che persistono per secondi o minuti e di cui siamo consapevoli, e la memoria a lungo-termine, che persiste per decenni. La memoria a lungo-termine può essere a sua volta suddivisa in due sistemi, a seconda del tipo di informazioni che vengono immagazzinate: la memoria dichiarativa, che è immagazzinata in maniera consapevole e può essere rievocata in maniera esplicita, e la memoria non-dichiarativa, una memoria non consapevole, che non viene riportata a parole, ma attraverso delle procedure (Gazzaniga et al., 2018).

Inizialmente Atkinson e Shiffrin (1968) svilupparono il modello modale, in cui i vari sistemi di memoria vengono messi in relazione tra di loro. Secondo questo modello un'informazione viene prima immagazzinata nella memoria sensoriale, poi, da qui i processi attentivi selezionano le informazioni da spostare nella memoria a breve-termine. L'informazione potrà essere spostata nella memoria a lungo-termine solo se verrà ripetuta più volte. In ogni stadio l'informazione può essere persa per decadimento nel corso del tempo, per interferenza, ovvero il suo posto viene preso da una nuova informazione, o per una combinazione di entrambi.

Tuttavia, questo modello fu smentito da diversi studi neuropsicologici. Questi mostravano una doppia dissociazione tra pazienti che avevano un danno alla corteccia parietale inferiore e temporale superiore, e pazienti (come H.M.) con deficit al lobo temporale mediale. I primi pazienti mostravano deficit nella memoria a breve-termine, ma non in quella a lungo-termine, mentre i secondi mostravano deficit nella memoria a lungo-termine, ma non in quella a breve-termine. Questi studi mostrano come un'informazione non deve passare per la memoria a breve-termine per essere immagazzinata in quella a lungo-termine (Gazzaniga et al., 2018).

2.1.1 Sistemi di memoria

Nella memoria sensoriale vengono depositate rilevanti informazioni sensoriali per brevissimi periodi di tempo. Le informazioni possono essere uditive (memoria ecoica) o visive (memoria iconica). Questo sistema di memoria contiene informazioni dell'ambiente intorno a noi, anche se non stiamo prestando attenzione in quel momento. La presenza di una traccia di memoria ecoica può essere misurata attraverso il MMN (*mismatch negativity*): un ERP (potenziale evento relato) che si presenta in risposta ad uno stimolo uditivo diverso da quelli presentati fino ad ora. Il MMN può essere interpretato come il tentativo della memoria sensoriale di trattenere il suono diverso per compararlo agli altri. Inoltre, attraverso lo studio della MMN e della MMF (*mismatch field*), ovvero la sua controparte magnetica, è stato possibile risalire a dove vengono mantenute le memorie sensoriali. Esse vengono immagazzinate nei propri sistemi sensoriali, quindi le memorie ecoiche saranno mantenute nella corteccia uditiva e quelle iconiche in quella visiva. La memoria sensoriale ha una grande capacità, ovvero può contenere molte informazioni contemporaneamente, ma solo per un breve periodo di tempo che va dai millisecondi ai secondi (Gazzaniga et al., 2018).

La memoria a breve-termine, al contrario di quella sensoriale, mantiene le informazioni visuo-spaziali e uditive per un periodo di tempo maggiore, ma ha una capacità limitata (7 ± 2 stimoli).

La memoria di lavoro fa parte della memoria a breve-termini. Essa mantiene le informazioni per un limitato periodo di tempo, manipolandole, quindi compiendo operazioni mentali su di esse. Un esempio potrebbe essere quando dobbiamo compiere delle operazioni numeriche mentalmente, come addizioni o moltiplicazioni. Baddeley e Hitch (1974) proposero un modello in cui la memoria di lavoro era divisa in tre parti: un esecutivo centrale, un *loop* fonologico e un taccuino visuo-spaziale. Il *loop* fonologico è un meccanismo che codifica le informazioni uditive. Esso è diviso a sua volta in due parti: una che immagazzina le informazioni uditive e un'altra componente articolatoria che permette di ripetere mentalmente l'informazione appena acquisita per non dimenticarla. Il taccuino visuo-spaziale è un magazzino che fa parte della memoria a breve-termini e che permette l'acquisizione di informazioni visive e visuo-spaziali. Infine, l'esecutivo centrale coordina le interazioni tra i due meccanismi. Questi meccanismi sottostanno ad aree cerebrali diverse. Ad esempio, il lobo parietale inferiore sinistro e il lobo frontale laterale sinistro sono implicati nel *loop* fonologico. La regione parieto-occipitale bilaterale è implicata nel taccuino visuo-spaziale (Gazzaniga et al., 2018). In generale quindi le regioni corticali sono implicate nella memoria a breve-termini e nella memoria di lavoro (Eichenbaum, 2000).

La memoria dichiarativa permette di immagazzinare per un lungo periodo di tempo informazioni e di rievocarle in maniera esplicita. Essa può essere a sua volta divisa in memoria episodica e semantica. La memoria episodica comprende eventi ed esperienze che la persona ha vissuto, quindi in un contesto spazio-temporale. Un evento che appartiene alla memoria episodica è il risultato di un'associazione tra cosa è accaduto, il luogo, il momento e gli agenti. Al contrario, la memoria semantica comprende conoscenze oggettive di fatti che non includono il contesto in cui sono stati appresi (Gazzaniga et al., 2018). La parte del cervello implicata nella formazione di nuove memorie dichiarative è il lobo temporale mediale. Esso è composto dall'amigdala, l'ippocampo e le cortecce paraippocampali, entorinali e peririnali, che circondano l'ippocampo (Gazzaniga et al., 2018).

La memoria non-dichiarativa è un sistema inconsapevole, per questo è anche chiamata memoria implicita. Essa non può essere dichiarata verbalmente ma tramite delle prestazioni. Questo sistema comprende diversi tipi di memoria: il priming, il condizionamento, l'apprendimento non-associativo, come abituazione e sensibilizzazione, e la memoria procedurale. Dato che questo tipo di memoria non era intaccato in H.M., essa non dipende dal lobo temporale mediale, ma coinvolge altre strutture cerebrali come i gangli della base, il cervelletto, l'amigdala e la corteccia. Un tipo di memoria non-dichiarativa è la memoria procedurale, richiesta in compiti che comprendono l'apprendimento di abilità motorie, come

nuotare, e alcune abilità cognitive, come leggere. L'apprendimento di queste abilità dipende da un'intensiva ripetizione del compito. L'acquisizione di questo sistema di memoria coinvolge i gangli cortico-basali. Un compito utilizzato per testare l'apprendimento procedurale è il SRTT (*serial reaction time task*). In questo compito il soggetto si trova davanti ad una tastiera. Ogni pulsante corrisponde ad una luce sullo schermo posto davanti al soggetto. Ogni volta che una luce si illumina, il partecipante dovrà premere il pulsante sulla tastiera corrispondente. Le luci si illumineranno secondo una sequenza che si ripeterà più volte nel corso del compito. A mano a mano che il soggetto ripeterà il compito diventerà sempre più veloce e accurato nel compiere la sequenza. Questo indica che la sequenza è stata appresa. Tuttavia, l'apprendimento sarà solamente implicito poiché il soggetto non sarà consapevole che le luci si illuminano seguendo una sequenza (Gazzaniga et al., 2018).

2.2 Processi di memoria

Tutti i diversi sistemi di memoria sono costituiti da tre processi attraverso i quali la memoria viene formata: codifica, deposito e recupero. Durante la codifica vengono elaborate le informazioni in entrata e create delle tracce mnemoniche suscettibili alle interferenze. La codifica si divide a sua volta in acquisizione e consolidamento. Durante l'acquisizione alcuni stimoli ritenuti rilevanti vengono elaborati e acquisiti dalla memoria. Poi avviene il consolidamento, in cui le tracce mnemoniche vengono stabilizzate. Il consolidamento rafforza la traccia mnemonica, rendendola più stabile nel tempo. Il secondo processo è il deposito, attraverso il quale le informazioni vengono mantenute in memoria. Il terzo processo è il recupero, che consiste nell'accedere alle tracce mnemoniche immagazzinate. Il recupero può essere utile per prendere delle decisioni o per adattare il nostro comportamento ad una situazione. Il recupero è consapevole solo per alcune memorie, come quelle dichiarative, mentre è inconsapevole per altre, come quelle non-dichiarative (Gazzaniga et al., 2018).

Di particolare importanza in questa tesi è il consolidamento della memoria. Il consolidamento è un processo attraverso il quale una memoria labile e temporanea viene trasformata in una memoria più stabile e duratura. Il concetto di consolidamento della memoria fu proposto per la prima volta nel 1900 da Müller e Pilzecker per spiegare il fenomeno dell'interferenza retroattiva. Müller e Pilzecker notarono che le informazioni appena apprese rimanevano vulnerabili alle interferenze per un certo periodo di tempo dopo l'apprendimento (Squire et al., 2015).

Il consolidamento si divide in due tipi: il consolidamento di sistema e il consolidamento sinaptico.

Il consolidamento di sistema attualmente si basa sul modello ideato da Marr (1971) del sistema di memoria a due stadi, che vede la divisione tra un magazzino ad apprendimento lento e uno ad apprendimento veloce. Questo modello offre per la prima volta una soluzione al dilemma stabilità-plasticità: il problema di come il cervello possa continuare ad acquisire nuove informazioni senza che queste ultime interferiscano con le vecchie (Rasch & Born, 2013).

Secondo il modello di Marr le informazioni sono inizialmente depositate nel magazzino ad apprendimento veloce, che per la memoria dichiarativa è l'ippocampo. Poi, queste informazioni vengono gradualmente trasferite al magazzino ad apprendimento lento, ovvero la corteccia cerebrale. La codifica delle informazioni nel magazzino ad apprendimento veloce avviene in maniera veloce ed efficiente, anche in un solo tentativo. Tuttavia, queste informazioni sono labili e vulnerabili alle interferenze. Con il tempo, queste informazioni vengono trasportate nel magazzino ad apprendimento lento e, attraverso la loro ripetuta riattivazione, integrate con le informazioni preesistenti. Queste riattivazioni avvengono sia durante la veglia che durante periodi *off-line*, ad esempio il sonno (Rasch & Born, 2013).

Quindi, per quanto riguarda le memorie dichiarative, l'ippocampo ha un ruolo solamente temporaneo. Inizialmente le informazioni vengono codificate nelle diverse regioni della corteccia, poi vengono riunite nel lobo temporale mediale, dove l'ippocampo crea un legame tra di esse. Successivamente, attraverso ripetute riattivazioni della traccia mnemonica, caratterizzate da interazioni tra la corteccia e il lobo temporale mediale, si formano delle connessioni tra le due aree, e le informazioni vengono trasportate alla corteccia (Figura 2.1). In questo modo, l'ippocampo diventa sempre meno importante per il deposito e il recupero delle informazioni (Gazzaniga et al., 2018).

Una volta consolidata, la memoria a lungo-termine è dinamica; in alcuni casi può ritornare labile e ristabilizzarsi gradualmente, attraverso il fenomeno del riconsolidamento. Inoltre, la facilità con cui una memoria viene consolidata può dipendere anche dalla conoscenza pregressa di quell'informazione (Squire et al., 2015).

Questo modello è valido anche per le memorie non-dichiarative, come la memoria procedurale, suggerendo che la distribuzione delle memorie da un magazzino ad apprendimento veloce ad un magazzino ad apprendimento lento potrebbe essere un meccanismo generale per tutte le memorie a lungo-termine (Rasch & Born, 2013).

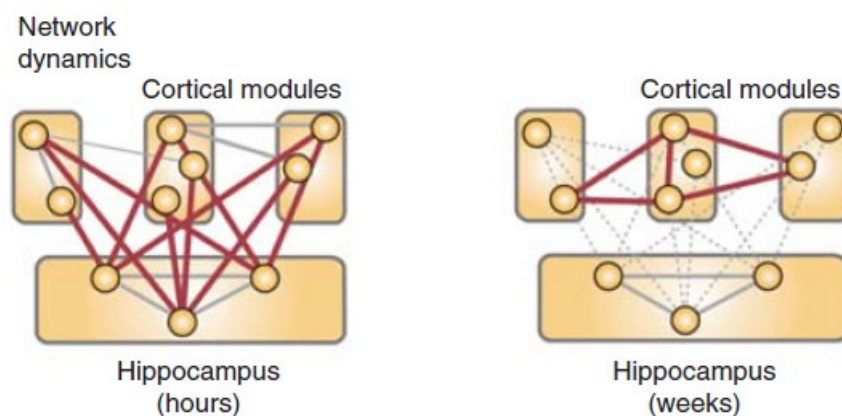


Figura 2.1 *Modello ipotetico dell'interazione tra ippocampo e corteccia durante il consolidamento.* Tratto da Squire et al., (2015).

Alla base del consolidamento di sistema e della formazione di nuove memorie c'è il consolidamento sinaptico. Infatti, a livello neuronale, la formazione di una memoria si basa sul cambiamento della forza delle interazioni sinaptiche in una rete neurale (Rasch & Born, 2013).

Durante il consolidamento sinaptico avviene un rimodellamento delle sinapsi e delle spine dendritiche dei neuroni coinvolti nell'informazione codificata. Questo rimodellamento produce dei cambiamenti a lungo-termine nell'interazione tra le sinapsi (Kandel, 2001). Questo tipo di consolidamento avviene nei primi minuti o nelle prime ore dopo l'acquisizione dell'informazione ed è valido per tutti i tipi di memoria, dichiarativa e non (Dudai, 2004).

Nel 1949 Donald Hebb propose che alla base dell'apprendimento e della formazione di nuove memorie ci fosse il rafforzamento delle connessioni sinaptiche. Il rafforzamento di una connessione tra due neuroni avviene quando questi si attivano contemporaneamente. Questa teoria è chiamata legge di Hebb, secondo la quale "I neuroni che si attivano insieme si potenziano reciprocamente" (Gazzaniga et al., 2018).

Vista la teoria dell'apprendimento Hebbiano e il ruolo dell'ippocampo nella formazione di memorie, per molto tempo è stato ipotizzato che i neuroni dell'ippocampo fossero plastici, quindi capaci di cambiare le loro connessioni sinaptiche. Anche se ormai è chiaro che l'ippocampo non ha un ruolo rilevante nel deposito e nel recupero delle memorie a lungo-termine, questa teoria può essere considerata valida anche per i neuroni corticali o appartenenti ad altre aree sottocorticali (Gazzaniga et al., 2018).

A conferma della legge di Hebb, Bliss scoprì un fenomeno chiamato LTP, o potenziamento a lungo termine. L'LTP è uno dei meccanismi di plasticità sinaptica coinvolti nel

consolidamento sinaptico (Gazzaniga et al., 2018). Esso consiste nell'incremento a lungo termine della connessione tra due neuroni ed è alla base della codifica di nuove rappresentazioni mnemoniche. I cambiamenti dovuti al potenziamento a lungo-termine possono durare fino a settimane negli animali. Inoltre, si è visto che, quando vengono dati degli impulsi a bassa frequenza in alcuni neuroni dell'ippocampo, avviene una riduzione della dimensione del potenziale post-sinaptico del neurone, inducendo una depressione a lungo-termine, o LTD.

Questo potenziamento a lungo-termine non è stato studiato solo nell'ippocampo, ma anche nell'amigdala, nei gangli della base, nel cervelletto e nella corteccia; tutte aree coinvolte nell'apprendimento dichiarativo e non (Gazzaniga et al., 2018).

Il potenziamento a lungo-termine è costituito da tre caratteristiche principali:

- Cooperatività: se ci sono più input deboli che provengono da diversi neuroni e convergono in uno solo, il potenziamento avviene.
- Specificità: la sinapsi attiva che converge su un neurone verrà potenziata, ma non le altre non attive che convergono sullo stesso neurone.
- Associatività: se un input debole e uno forte convergono sullo stesso neurone, quello forte avrà effetto anche sul debole e verranno potenziate entrambe le sinapsi.

I cambiamenti sinaptici, dovuti all'induzione del potenziamento a lungo-termine, avvengono sia a livello presinaptico che postsinaptico. Ad esempio, potrebbe aumentare la sensibilità dei recettori postsinaptici al neurotrasmettitore, o aumentare il numero dei recettori. Oppure potrebbe aumentare la quantità del neurotrasmettitore rilasciato dal neurone presinaptico. Un altro cambiamento potrebbe essere un aumento dell'efficacia delle spine dendritiche nel trasmettere il potenziale postsinaptico eccitatorio ai dendriti (Gazzaniga et al., 2018).

2.3 Ruolo del sonno nel consolidamento della memoria

Come asserito in precedenza, il sonno ha varie funzioni e una di esse è promuovere il consolidamento della memoria.

Nel 1885 Ebbinghaus pubblicò una serie di studi condotti su sé stesso, sulla memoria e sull'oblio. Da questi studi emerse che il ricordo di coppie di non-parole diminuiva velocemente nelle prime ore dopo l'apprendimento, mentre diminuiva più lentamente nei giorni successivi. Inoltre, egli notò che se si dormiva nel periodo tra l'apprendimento e il test, l'oblio era ridotto. Un altro studio condotto da Rosa Hein evidenziò per primo come un apprendimento seguito da un periodo di sonno portava a minore oblio rispetto ad un apprendimento seguito da un periodo

di veglia (Rasch & Born, 2013). Questi studi mostrarono per la prima volta l'importanza che il sonno ha sulla memoria.

Tuttavia, fu grazie allo studio di Jenkins e Dallenbach (1924) che si dimostrarono i benefici del sonno sulla memoria. Questo studio fu condotto su due uomini. Essi dovevano apprendere delle liste di sillabe senza senso e poi venivano esaminati dopo periodi di 1, 2, 4 o 8 ore dall'apprendimento, che potevano essere costituiti da sonno o da veglia. Jenkins e Dallenbach conclusero che il sonno riduceva l'oblio poiché evita delle interferenze, ovvero non si apprendono informazioni simili a quelle già apprese, o, più in generale, non si compiono attività mentali che potrebbero interferire con il materiale appena appreso.

Quindi, inizialmente si pensava che il sonno avesse un effetto protettivo sulle informazioni appena codificate, e quindi ancora labili, prevenendo che venissero sovrascritte nuove informazioni. Perciò, il ruolo del sonno sulla memoria era considerato puramente passivo (Rasch & Born, 2013).

Tra gli studi che hanno suggerito l'idea che il sonno avesse un ruolo attivo sulla memoria, si possono citare alcuni lavori di Ellenbogen. Secondo questi studi, il sonno dopo l'apprendimento promuoveva il consolidamento di memoria e rinforzava le tracce mnestiche. Infatti, in uno studio si dimostrò che non solo il richiamo di parole apprese era migliore dopo il sonno, rispetto che dopo la veglia, ma che, aggiungendo una lista di parole di interferenza prima del test, la memoria dei soggetti che avevano dormito era ancora più resistente alle interferenze rispetto ai soggetti rimasti svegli (Ellenbogen et al., 2009).

Numerosi studi hanno confermato l'effetto benefico del sonno sia sulla memoria dichiarativa, aumentando la ritenzione delle informazioni, che sulla memoria procedurale, migliorando la prestazione.

Gli effetti del consolidamento durante il sonno sono maggiormente visibili in specifiche condizioni (Diekelmann & Born, 2010). Due variabili che possono mutare gli effetti del sonno sul consolidamento sono l'intervallo di tempo tra l'apprendimento e il sonno, e la durata del sonno. I benefici del sonno sul consolidamento possono essere osservati dopo una dormita di 8 ore, così come dopo 1-2 ore di sonno (Tucker et al., 2006), e addirittura dopo 6 minuti (Lahl et al., 2008). Anche se rimane ancora sconosciuta la quantità di sonno ottimale per apportare beneficio alla memoria, è stato osservato che un sonno di maggior durata migliora la memoria procedurale (Walker et al., 2003). Invece, altre ricerche suggeriscono che un minore intervallo di tempo tra l'apprendimento e il sonno porta ad una migliore ritenzione di memoria. In queste ricerche, compiute sulla memoria dichiarativa, si notava che un intervallo di 3 ore tra l'apprendimento e il sonno produceva un migliore recupero di informazioni rispetto ad un

intervallo di 10 ore (Gais et al., 2006; Talamini et al., 2008). Tuttavia, queste ricerche non hanno considerato che i soggetti avrebbero potuto dimenticare le informazioni durante la veglia. Per quanto riguarda la memoria procedurale, per produrre dei benefici, il sonno dovrebbe avvenire lo stesso giorno dell'apprendimento (Stickgold et al., 2000; Walker et al., 2003).

È importante notare che il sonno agisce sul consolidamento della memoria in modo selettivo. Infatti, ci sono tre fattori principali che influenzano il consolidamento della memoria.

Il primo fattore è il modo in cui vengono codificate le informazioni: implicitamente o esplicitamente. Il sonno supporta il consolidamento di tutti i sistemi di memoria, sia dichiarativa che procedurale, ma, principalmente, di memorie codificate in modo esplicito. Quindi, il sonno favorisce il consolidamento delle memorie dichiarative (Rasch & Born, 2013).

Il secondo fattore è la forza della memoria alla codifica. È stato proposto che il sonno benefici maggiormente le tracce mnestiche con una forza intermedia (Rasch & Born, 2013).

Il terzo fattore è quanto quella memoria è rilevante per il futuro dell'individuo o per i suoi obiettivi. Infatti, quando ai soggetti, che avevano appena appreso la sequenza del *finger tapping task*, si prometteva una ricompensa monetaria, il giorno successivo essi avevano una migliore prestazione in quella sequenza rispetto che in altre (Fischer & Born, 2009). In un altro studio, dopo aver appreso un compito di memoria dichiarativa e aver informato i soggetti che quel materiale gli sarebbe stato richiesto dopo il sonno, si osservava un aumento dell'attività ad onde lente durante il sonno (Wilhelm et al., 2011). Da questi studi si evince che il sonno promuove il consolidamento della memoria sulla base di fattori motivazionali.

Durante il sonno le memorie possono sia subire un cambiamento quantitativo che uno qualitativo. Per quanto riguarda il cambiamento quantitativo, le rappresentazioni mnestiche vengono rafforzate, rendendole più resistenti alle interferenze e migliorando la prestazione dell'individuo. Il sonno, attraverso la riorganizzazione, apporta anche cambiamenti qualitativi alle memorie, come: generare nuove associazioni, estrarre caratteristiche invariante, fare inferenze e intuizioni, e trasformare conoscenze implicite in esplicite (Diekelmann & Born, 2010).

Sono stati sviluppati diversi modelli per cercare di illustrare la relazione tra sonno e consolidamento della memoria. Attualmente i modelli principali sono tre: l'ipotesi del consolidamento di sistema attivo, l'ipotesi dell'omeostasi sinaptica e il modello a due stadi, che cerca di conciliare i due modelli precedenti.

2.3.1 Ipotesi del consolidamento di sistema attivo

L'ipotesi del consolidamento di sistema attivo si basa sul modello del sistema di memoria a due stadi proposto da Marr (1971). Tale modello spiega come avviene il consolidamento di sistema per la memoria dichiarativa (Diekelmann & Born, 2010). Sebbene l'ipotesi si basa su un modello che riguarda la memoria dichiarativa, si pensa che l'ipotesi del consolidamento di sistema attivo possa valere anche per le memorie non-ippocampo-dipendenti (Klinzing et al., 2019).

Si parte dal presupposto che il consolidamento di memoria durante il sonno avviene grazie ad una continua riattivazione delle informazioni appena apprese. Queste riattivazioni si originano dall'ippocampo e si propagano verso la corteccia. Grazie a queste riattivazioni, che avvengono durante lo SWS, le informazioni che si trovano temporaneamente nell'ippocampo, vengono distribuite verso la corteccia, dove saranno depositate a lungo-termine e integrate alle informazioni preesistenti (Rasch & Born, 2013). Come già accennato in precedenza, queste riattivazioni neuronali possono avvenire sia durante periodi di veglia che di sonno. Entrambe le riattivazioni contribuiscono alla stabilizzazione delle memorie. Tuttavia, le riattivazioni che avvengono durante il sonno hanno una maggiore influenza sul consolidamento di sistema (Brodt et al., 2023).

In alcuni studi condotti sui ratti, in seguito ad un compito di apprendimento spaziale, è stata osservata la presenza di riattivazioni neuronali nell'ippocampo durante lo SWS. Inoltre, è stato notato come queste riattivazioni fossero accompagnate da *sharp-wave ripples* (Diba & Buzsáki, 2007). In altri studi, condotti sempre sui ratti, dopo l'apprendimento di un compito spaziale semplice, è emerso che, durante il successivo SWS, si verificava una riattivazione degli stessi neuroni ippocampali attivi durante la codifica. Inoltre, i neuroni che si riattivavano mantenevano lo stesso ordine temporale di scarica di quando erano stati codificati (Ji & Wilson, 2007).

La riattivazione neuronale ippocampale può avvenire insieme ad attivazioni in altre aree corticali e subcorticali. Questa riattivazione, che si mostra attraverso gli *sharp-wave ripples*, avviene con un ritardo temporale (40-50 ms) tra ippocampo e altre aree come la corteccia, lo striato, l'amigdala e l'area tegmentale ventrale. Questo ritardo temporale suggerisce che la riattivazione delle memorie si espande dall'ippocampo verso altre aree corticali e striatali (Klinzing et al., 2019). Degli studi recenti, che hanno utilizzato la risonanza magnetica funzionale (fMRI) e la tomografia a emissione di positroni (PET), hanno mostrato come le regioni cerebrali implicate nell'apprendimento di un compito erano maggiormente attive durante il sonno successivo. Questa riattivazione avveniva soprattutto durante gli *spindles* e le

oscillazioni lente, onde implicate nel consolidamento della memoria. Inoltre, gli studi mostrano una correlazione positiva tra la riattivazione di queste aree e la rievocazione delle informazioni apprese (Bergmann et al., 2012; Jegou et al., 2019).

Un aspetto importante di questa ipotesi è che il consolidamento della memoria durante il sonno è mediato da un appaiamento di tre oscillazioni durante lo SWS: le oscillazioni lente (SOs), gli *spindles* e i *ripples* (Figura 2.2). I *ripples*, che riflettono la riattivazione delle reti ippocampali, si innestano nei *down-state* eccitatori degli *spindles*. A loro volta, gli *spindles* si innestano negli *up-state* eccitatori delle oscillazioni lente. Più dettagliatamente, le aree implicate in questo processo sono tre: la corteccia, che produce le oscillazioni lente, il talamo, che produce gli *spindles*, e l'ippocampo, che genera i *ripples*. Le oscillazioni lente, gli *spindles* e i *ripples* regolano il dialogo tra queste tre aree cerebrali attraverso un'interazione ciclica, che include processi *top-down* e *bottom-up* (Klinzing et al., 2019).

Per quanto riguarda i processi *top-down*, dall'alto verso il basso, i *down-state* (iperpolarizzanti) delle oscillazioni lente corticali creano una finestra temporale in cui vengono soppressi gli *spindles* talamici e i *ripples* ippocampali. Con essi vengono anche inibite le riattivazioni neuronali. Invece, il successivo *up-state* (depolarizzante) delle oscillazioni lente promuove la generazione di *spindles*, che a loro volta sincronizzano l'attività dei *ripples* ai loro *down-state* (Klinzing et al., 2019).

Nei processi *bottom-up*, dal basso verso l'alto, gli *spindles* possono distribuirsi fino alla corteccia durante gli *up-state* delle oscillazioni lente, facilitando così il consolidamento sinaptico in queste aree. Inoltre, anche i *ripples* possono indurre delle oscillazioni lente nella corteccia prefrontale durante gli *up-state* (Klinzing et al., 2019).

Questo triplo innestamento sembra facilitare sia la trasmissione delle nuove informazioni dall'ippocampo alla corteccia attraverso la riattivazione neuronale, che il consolidamento sinaptico, che è alla base della riorganizzazione delle informazioni nella corteccia (Klinzing et al., 2019).

È stato dimostrato come questo triplo innestamento, durante il sonno successivo ad un apprendimento, possa predire migliori prestazioni di memoria (Latchoumane et al., 2017).

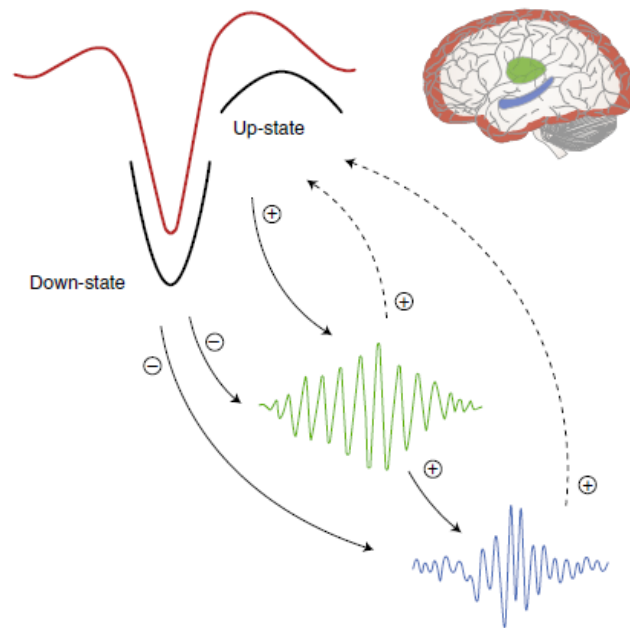


Figura 2.2 Oscillazioni che regolano il consolidamento di sistema attivo. In rosso la corteccia e le oscillazioni lente, in verde il talamo e gli *spindles* e in blu l'ippocampo e i *ripples*. Le linee continue indicano i processi *top-down* e quelle tratteggiate i processi *bottom-up*. Tratto da Klinzing et al., (2019).

2.3.2 Ipotesi dell'omeostasi sinaptica

Secondo questa ipotesi, sviluppata da Tononi e Cirelli (2006), la codifica delle informazioni, che avviene durante la veglia, porta ad un sovraccarico sinaptico nel cervello, ovvero un aumento della forza delle sinapsi, detto anche *upscaling*. Il sonno, in particolare lo SWS, attraverso le oscillazioni lente, serve a ridurre la forza di queste sinapsi, con il cosiddetto *downscaling* sinaptico (Figura 2.3). Questo fa sì che la forza sinaptica venga riportata a livelli accettabili in termini di energia e volume cerebrale richiesti. In questo modo le sinapsi vengono riutilizzate per codificare le informazioni nei giorni successivi (Diekelmann & Born, 2010).

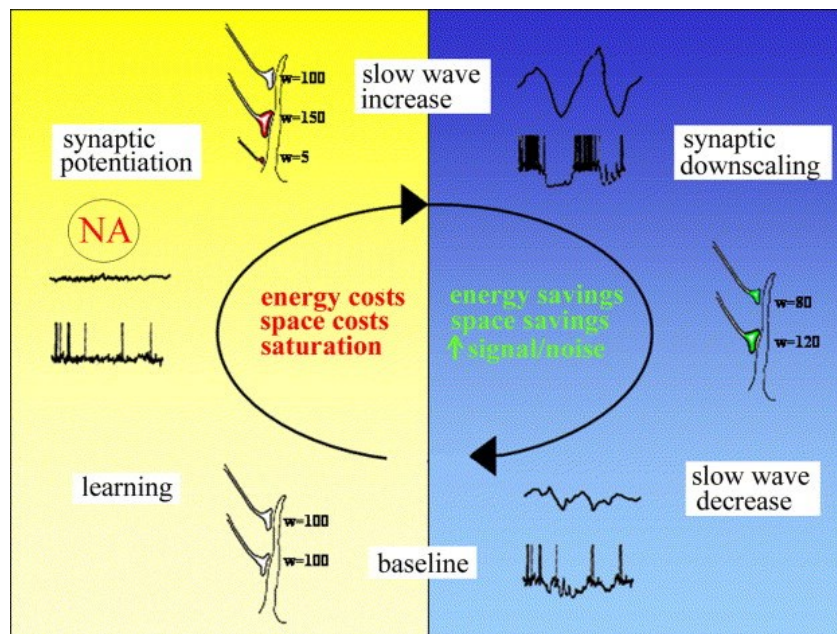


Figura 2.3 *Ipotesi dell'omeostasi sinaptica*. In giallo la veglia e i meccanismi di potenziamento sinaptico, in blu la notte e i meccanismi di depotenziamento sinaptico. Tratto da Tononi & Cirelli (2006).

È importante notare come a differenza della veglia, il sonno sembra ridurre un maggior numero di sinapsi nella corteccia (Klinzing et al., 2019). Ad esempio, uno studio condotto su topi adulti ha rivelato come durante il sonno c'è una diminuzione dell'area di contatto tra le spine dendritiche e i terminali degli assoni (de Vivo et al., 2017).

Come già accennato, le oscillazioni lente svolgono un ruolo fondamentale nel *downscaling*. Infatti, esse hanno un'ampiezza massima nella prima fase del sonno, ovvero quando la forza sinaptica è alta e deve essere abbassata. Avanzando con il sonno, invece, l'ampiezza delle oscillazioni lente decresce, poiché la forza delle sinapsi è stata abbassata. Si pensa che le oscillazioni lente possano indurre il *downscaling* grazie ai bassi livelli di neurotrasmettitori eccitatori che li contraddistinguono e al susseguirsi di *up-state* e *down-state* ad una frequenza minore di 1 Hz, promuovendo così il depotenziamento delle sinapsi (Diekelmann & Born, 2010).

Durante il *downscaling* le memorie che durante la veglia sono state codificate in maniera debole vengono cancellate, poiché la forza delle loro sinapsi, già deboli, viene ridotta maggiormente. Le memorie che sono state codificate in maniera più forte invece vengono consolidate; quindi, rafforzate ancora di più (Rasch & Born, 2013).

Tuttavia, ci sono degli aspetti critici in questa ipotesi. Innanzitutto, non ci sono dati sperimentali che provino quale sia la soglia oltre la quale la forza delle sinapsi viene annullata dal *downscaling*. Inoltre, è stato osservato come il sonno favorisca maggiormente il consolidamento delle memorie più deboli. Infatti, in un esperimento di interferenza retroattiva, dei soggetti hanno dovuto apprendere due liste di parole. Dopo aver appreso la seconda lista di parole, la memoria per la prima lista diventa più debole. Quindi, secondo l'ipotesi dell'omeostasi sinaptica, il sonno dovrebbe consolidare maggiormente la memoria della seconda lista di parole. Ma, contrariamente a quanto teorizzato nell'ipotesi, il consolidamento durante il sonno era maggiore per la prima lista di parole, ovvero quella più debole, rispetto che per la seconda, più forte (Rasch & Born, 2013).

2.3.3 Modello integrativo

Questo modello, proposto da Genzel e colleghi (2014), tenta di integrare i due modelli precedentemente presentati. L'idea alla base del modello è che durante il sonno diversi meccanismi possono sincronizzare l'attività cerebrale a livello globale o locale. Il consolidamento di sistema attivo richiede un consolidamento a livello globale, mentre l'omeostasi sinaptica ne richiede uno a livello locale. Gli eventi globali promuovono la riorganizzazione di tracce mnemoniche tra corteccia e ippocampo attraverso la riattivazione neuronale. Gli eventi locali invece, promuovono il consolidamento della memoria in un'area cerebrale, l'abbassamento della forza sinaptica (*downscaling*), e il rapporto segnale-rumore nelle memorie. Secondo il modello, eventi globali e locali avvengono in stadi diversi del sonno: il consolidamento di sistema attivo avverrebbe nello stadio N2 del NREM, caratterizzato da un sonno leggero, mentre l'omeostasi sinaptica nello stadio N3 del NREM, caratterizzato da un sonno più profondo. Infatti, la riattivazione neuronale, tipica del consolidamento di sistema attivo, origina nell'ippocampo, in concomitanza degli *sharp-wave ripples* e dei complessi K, che sono maggiormente visibili durante N2. Anche gli *spindles*, che avvengono in N2, hanno un ruolo nel consolidamento di sistema attivo, migliorando la plasticità locale nella corteccia, dove le informazioni sono state trasferite. Invece, l'omeostasi sinaptica sembra essere supportata dalle onde lente, che compaiono durante N3.

Quindi il consolidamento di sistema attivo, che avviene durante N2, è importante per la riattivazione neuronale delle memorie e per la comunicazione tra corteccia e ippocampo. Nel successivo N3, la riattivazione neuronale continua, contrastando il *downscaling* per le memorie salienti che non devono essere cancellate.

Perciò, secondo questo modello, i due meccanismi (quello di riattivazione e quello di *downscaling*) lavorano insieme (Figura 2.4). A livello globale la riattivazione neuronale potenzia le tracce mnemoniche importanti, creando un collegamento tra ippocampo e corteccia (Figura 2.4 A). Successivamente, gli *spindles* promuovono la deafferentazione della corteccia dall'ippocampo, aumentando la plasticità della corteccia (Figura 2.4 B). Infine, a livello locale, il *downscaling* indebolisce le tracce mnemoniche irrilevanti, preparando l'ippocampo ad una futura codifica (Figura 2.4 C) (Genzel et al., 2014).

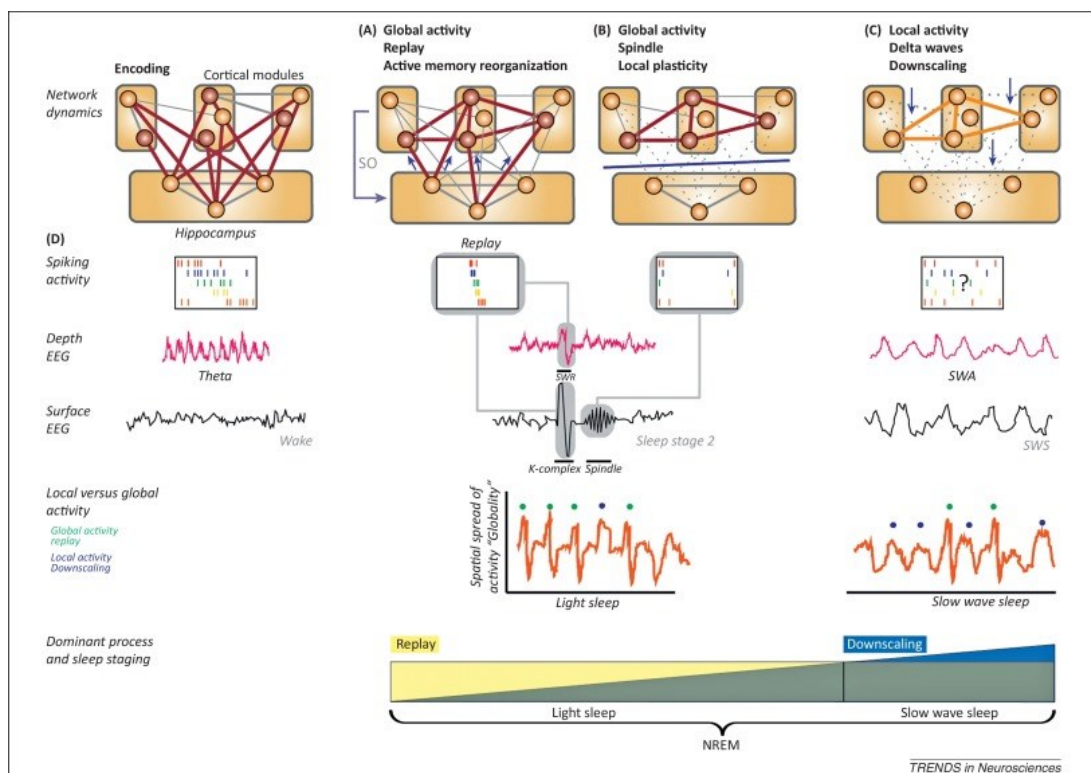


Figura 2.4 Il ruolo funzionale della riattivazione e del *downscaling*. Tratto da Genzel et al., (2014).

2.4 Relazione tra sonno e memoria dichiarativa

Come precedentemente affermato, il sonno promuove il consolidamento della memoria, migliorando la sua ritenzione. Diversi gruppi di ricerca si sono posti la domanda se i diversi stadi del sonno abbiano un ruolo differente nel consolidamento della memoria e nei differenti tipi di memoria. Inizialmente in molti hanno concentrato l'attenzione sul ruolo del sonno REM nel consolidamento della memoria e sulle conseguenze della sua deprivazione (Diekelmann &

Born, 2010). È stato notato che la deprivazione di sonno REM negli animali aveva un effetto sulla memoria solamente se effettuata in finestre temporali specifiche dopo l'apprendimento. Inoltre, i compiti di memoria utilizzati in questi studi erano compiti emotivi. Questo dimostra come il sonno REM possa beneficiare il consolidamento di memorie con un carico emotivo (Wagner et al., 2001). Gli studi condotti sugli umani, invece, hanno riportato dei risultati molto più inconsistenti. Ad esempio, molti studi non hanno trovato un effetto della deprivazione del sonno REM sulla ritenzione di memorie dichiarative in cui il compito era semplice, come ricordare liste di parole (Bertini & Torre, 1973). Invece, utilizzando compiti più difficili di memoria dichiarativa, come ricordare delle storie, si è notato un effetto della deprivazione del sonno REM sulla ritenzione della memoria (Tilley & Empson, 1978). Fischer e colleghi (2002) hanno notato come dopo un compito di memoria procedurale, come il *finger tapping task*, la quantità di tempo passato in sonno REM dopo l'apprendimento prediceva la prestazione nel compito.

Per cercare di comprendere che ruolo avessero i diversi stadi del sonno nel consolidamento della memoria sono state ideate due ipotesi: l'ipotesi del processo duale e l'ipotesi sequenziale.

Secondo l'ipotesi del processo duale i diversi stadi del sonno sono implicati nel consolidamento di memorie differenti. In particolare, lo SWS promuove il consolidamento della memoria dichiarativa e il sonno REM promuove quello della memoria non dichiarativa. Questa ipotesi ha ricevuto molto supporto in studi sugli umani che hanno utilizzato il "paradigma della metà notte". Questo paradigma (Figura 2.5), ideato da Ekstrand e collaboratori (1971), compara la prestazione nella ritenzione di informazioni tra individui che dormono durante la prima metà del sonno, ricca di SWS, e individui che dormono durante la seconda metà del sonno, ricca di sonno REM. I soggetti nella prima condizione apprendono un compito di memoria, dormono per la prima parte del sonno (3-4 ore) e poi vengono sottoposti al test. I soggetti nella seconda condizione dormono per circa 3 ore per soddisfare il bisogno notturno di SWS, poi apprendono il compito di memoria e dormono per la seconda parte del sonno, infine vengono sottoposti al test. Questo paradigma è in grado di comparare gli effetti dello SWS e del sonno REM sul consolidamento della memoria. Esso è utile anche per controllare delle possibili variabili confondenti: lo stress dovuto a deprivazione del sonno, il miglioramento dovuto al semplice passare del tempo e il fatto che la prima parte del sonno, che caratterizza la seconda condizione, non interferisca con la codifica delle informazioni nel compito di memoria (Rasch & Born, 2013).

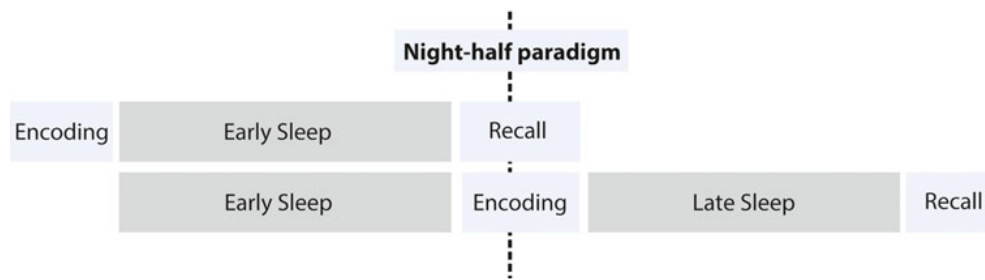


Figura 2.5 Paradigma della metà notte. Tratto da Ackermann & Björn (2014).

Yaroush e collaboratori (1971) furono i primi a trovare un effetto benefico dello SWS in compiti di memoria dichiarativa utilizzando il “paradigma della metà notte”. In un ulteriore studio, è stato dimostrato che un sonno ricco di SWS beneficiava il consolidamento della memoria dichiarativa, mentre il sonno REM migliorava la prestazione in compiti procedurali, impliciti ed emotivi, quando comparati con uno stesso intervallo temporale di veglia (Plihal & Born, 1997).

Un limite di questo paradigma è che non tiene conto dello stadio 2 del sonno NREM e dei suoi possibili effetti sul consolidamento della memoria. Ad esempio, ci sono delle evidenze che mostrano come lo stadio N2 e gli *spindles* contribuiscono all’apprendimento di compiti motori (Fogel & Smith, 2006). Inoltre, degli studi mostrano come il tempo speso in N2 e la densità degli *spindles* veloci siano maggiori dopo l’apprendimento di un compito motorio (Morin et al., 2008) e come essi predicano anche il miglioramento della prestazione nel *finger tapping task* (Barakat et al., 2011). È stata trovata una correlazione tra lo stadio N2 e gli *spindles*, e la ritenzione di memorie verbali e visuo-spaziali, suggerendo un loro ruolo anche nelle memorie dichiarative (Ruch et al., 2012).

Al contrario della prima ipotesi, l’ipotesi sequenziale afferma che i diversi stadi del sonno hanno un ruolo complementare nel consolidamento delle memorie dichiarative e non. Infatti, secondo questa ipotesi, per far sì che il sonno apporti beneficio alla memoria è importante che il sonno NREM e il sonno REM si succedano ciclicamente. L’ipotesi assume che durante lo SWS le memorie non adattive vengano indebolite, mentre quelle adattive vengano rafforzate. Durante il sonno REM successivo, le memorie adattive vengono integrate e depositate insieme alle memorie preesistenti (Rasch & Born, 2013). Alcuni studi sui ratti supportano questa ipotesi, mostrando come la prestazione in un compito di evitamento attivo migliorava se allo SWS succedeva il sonno REM. Questo non accadeva se allo SWS succedeva un periodo di veglia. Lo studio, quindi, dimostra come non si hanno benefici sulla memoria se lo SWS non è seguito

dal sonno REM. Secondo gli autori (Giuditta et al., 1995) i risultati sono spiegati dal fatto che lo SWS porta ad un depotenziamento sinaptico, indebolendo le connessioni, mentre il sonno REM porta ad un rafforzamento sinaptico, grazie alle oscillazioni con frequenze più elevate da cui è caratterizzato. Ulteriore supporto all'ipotesi proviene da studi su uomini. In uno studio (Mednick et al., 2003) i soggetti apprendevano un compito di “*visual texture discrimination*”, dopodiché dovevano fare un sonnellino. Si è notato che la soglia di discriminazione migliora dopo un sonnellino di 90 minuti, dove si sono succeduti sonno NREM e sonno REM, mentre dopo un sonnellino di 60 minuti, che contiene solo sonno NREM, il miglioramento era minore. Un altro studio (Gais et al., 2000) ha impiegato il paradigma della metà notte. I soggetti apprendevano sempre lo stesso compito di “*visual texture discrimination*”. È stato notato che si aveva un grande miglioramento nella soglia di discriminazione se il soggetto dormiva per tutta la notte, avendo quindi sia sonno NREM che sonno REM. Se invece i soggetti dormivano solo per la prima parte della notte, ricca di SWS, si aveva un miglioramento intermedio. Quando invece i soggetti dormivano solo la seconda parte della notte, ricca di sonno REM, non si aveva alcun miglioramento.

Quindi, ci sono molti studi a supporto dell'ipotesi sequenziale, sebbene quest'ipotesi sia stata raramente testata direttamente (Rasch & Born, 2013).

A prescindere dalle diverse ipotesi, è noto che il sonno NREM promuove il consolidamento della memoria. In particolare, sono state trovate delle relazioni tra alcune delle onde che lo caratterizzano, come gli *spindles* e le oscillazioni lente, e il miglioramento della memoria.

2.4.1 Memoria dichiarativa e *spindles*

Molti studi, condotti sia su animali che su umani, hanno dimostrato una relazione tra l'attività degli *spindles* e l'elaborazione della memoria durante il sonno, soprattutto per quanto riguarda gli *spindles* veloci (12-15 Hz). Ad esempio, è stato dimostrato che dopo aver appreso un compito di memoria dichiarativa (coppie di parole) la quantità di *spindles* nel sonno successivo, soprattutto nella prima parte della notte, aumentava (Gais et al., 2002). In un altro studio (Schabus et al., 2004) è stato notato che avevano un miglioramento nella memoria solo i soggetti che, dopo l'apprendimento di un compito di memoria dichiarativa (coppie di parole), mostravano un incremento nell'attività degli *spindles* durante la notte.

Infatti, l'attività degli *spindles* aumenta durante il sonno successivo all'apprendimento, soprattutto nelle aree corticali impiegate nella codifica di quelle informazioni. Inoltre, anche la densità degli *spindles* correla con la ritenzione delle informazioni apprese.

L'attività degli *spindles* correla anche con il grado di integrazione lessicale di nuove parole apprese il giorno precedente (Tamminen et al., 2010). Questo dimostra che gli *spindles* hanno un ruolo nell'integrare nuove memorie nella rete corticale che contiene informazioni preesistenti (Klinzing et al., 2019). Essi sono quindi implicati nello scambio di informazioni, tra l'ippocampo e la corteccia, che avviene durante il consolidamento di sistema attivo (Rasch & Born, 2013).

Secondo alcuni studi gli *spindles* hanno un ruolo importante nel consolidamento della memoria dichiarativa solamente se avvengono durante lo SWS. Ad esempio, nello studio di Cox e colleghi (2012) la densità degli *spindles* prevedeva il consolidamento della memoria solo quando essi avvenivano durante lo SWS, e non durante lo stadio 2 del NREM. In contrasto con questo studio è stato notato che nei sonnellini, contenenti solo N2, la prestazione in un compito associativo correlava positivamente con l'attività degli *spindles* (Ruch et al., 2012).

Tuttavia, nonostante i numerosi studi correlazionali sul coinvolgimento degli *spindles* nel consolidamento della memoria, non sono ancora state trovate evidenze causali a supporto. Infatti, per trovare un risultato causale si dovrebbe manipolare sperimentalmente l'attività degli *spindles*. Alcuni studi hanno provato a manipolare l'attività degli *spindles* attraverso dei farmaci agonisti dei recettori GABAergici, senza però alcun risultato, in quanto i farmaci al contempo inibivano lo SWS (Rasch & Born, 2013).

Nonostante la scarsità di studi causali che dimostrano il ruolo degli *spindles* nel consolidamento, ci sono evidenze che mostrano come le oscillazioni lente senza *spindles* innestati hanno effetti depotenzianti sulle sinapsi corticali (González-Rueda et al., 2018). Questo potrebbe spiegare perché nella popolazione anziana il consolidamento della memoria durante la notte è meno efficace. Infatti, negli anziani l'innestamento tra *spindles* e *up-state* delle oscillazioni lente è fuori tempo (Helfrich et al., 2018). Perciò, l'innestamento degli *spindles* agli *up-state* delle oscillazioni lente sembra essere molto importante per la plasticità sinaptica alla base della formazione di memorie a lungo-termine nella corteccia (Klinzing et al., 2019).

2.4.2 Memoria dichiarativa e oscillazioni lente

È ormai evidente come le oscillazioni lente abbiano un ruolo fondamentale nel consolidamento della memoria, in particolare di quella dichiarativa.

Anche negli animali si osserva l'importanza delle oscillazioni lente nel consolidamento della memoria. Infatti, è stato notato un aumento dell'attività delle oscillazioni lente (SWA) durante lo SWS successivo all'apprendimento di informazioni. Ad esempio, quando dei ratti venivano

messi al buio e dovevano muoversi basandosi solo sui loro baffi, c'era un aumento della SWA nella corteccia somato-sensoriale durante il sonno successivo, cosa che non accadeva se il ratto doveva muoversi esposto alla luce (Yasuda et al., 2005). Negli umani, invece, l'apprendimento di una memoria dichiarativa, come delle coppie di parole, aumenta l'ampiezza degli *up-state* delle oscillazioni lente (Mölle et al., 2009).

Un altro studio a supporto dell'importanza dello SWS nella memoria dichiarativa mostra che con l'avanzare dell'età aumenta l'atrofia della corteccia prefrontale mediale (mPFC), la quale porta ad una diminuzione della SWA. Questa diminuzione a sua volta porta ad una compromissione della memoria a lungo-termine, dimostrando quindi come un'alterazione del sonno possa portare ad un declino della memoria, e come le oscillazioni lente abbiano un ruolo fondamentale nel consolidamento della memoria (Mander et al., 2013).

È anche stato dimostrato come nei partecipanti giovani ci fosse una correlazione positiva tra la SWA e la ritenzione di memoria dichiarativa. In particolare, maggiore era la SWA e maggiore era il numero di parole ricordate tra una lista di parole apprese precedentemente (Piosczyk et al., 2013).

Oltre agli studi correlazionali precedentemente mostrati, un ulteriore supporto all'idea che lo SWS abbia un ruolo importante nel consolidamento della memoria dichiarativa è stato apportato da studi causali. Ad esempio, in un esperimento si è cercato di indurre delle oscillazioni lente attraverso la stimolazione transcranica a corrente diretta (tDCS). In particolare, è stata applicata la tDCS ad una frequenza molto bassa (0,003 Hz), alternando 30 secondi di stimolazione a 30 secondi di non stimolazione, sulla corteccia prefrontale durante il sonno NREM. In questo modo i ricercatori hanno trovato un aumento della SWA e un miglioramento della memoria dichiarativa (Marshall et al., 2004). Gli effetti sulla ritenzione di coppie di parole erano maggiori se veniva applicata la tDCS a 0,75 Hz durante il sonno NREM, poiché questa frequenza mima le oscillazioni lente, aumentando così la loro attività. Nello stesso esperimento è stata anche applicata una stimolazione a 5 Hz (onde theta) durante il sonno NREM, che mima le oscillazioni che avvengono durante il sonno REM. Questa volta la SWA è diminuita e la ritenzione di coppie di parole è rimasta invariata. Quest'ultimo risultato non ha avuto successo, perché la stimolazione funziona solamente se si applica la frequenza che mima le oscillazioni tipiche dello stadio del sonno in cui ci si trova. Infatti, applicando la tDCS a 0,75 Hz durante il sonno REM risulta inefficace sia nell'aumento della SWA che nel miglioramento della memoria dichiarativa (Marshall et al., 2006).

2.5 Stimolazione non invasiva del sonno

È ormai nota l'abilità del cervello di elaborare informazioni sensoriali provenienti dall'esterno anche durante il sonno. Ad esempio, nello studio di Goel e colleghi (2005) è stato presentato uno stimolo olfattivo a dei soggetti durante il sonno NREM. Questo stimolo ha aumentato il tempo passato in SWS e in N2. Basandosi su queste informazioni Rasch e colleghi (2007) hanno scoperto che il cervello può essere manipolato durante il sonno, attraverso delle stimolazioni olfattive, con lo scopo di rafforzare la memoria di informazioni recentemente codificate. Infatti, nel loro studio i soggetti venivano riesposti ad un odore, durante lo SWS, a cui erano già stati esposti durante la codifica. Questo migliorava la ritenzione delle memorie dichiarative apprese in precedenza, ma non di quelle procedurali.

A partire da questa scoperta sono stati sviluppati nuovi approcci per stimolare il cervello durante il sonno, in modo da rafforzare le informazioni appena apprese. I principali metodi sono: la *targeted memory reactivation* (TMR), la stimolazione ritmica e la *closed-loop auditory stimulation* (CLAS).

2.5.1 Targeted memory reactivation (TMR)

Attraverso la TMR si cerca di promuovere il consolidamento della memoria utilizzando delle stimolazioni sensoriali, ad esempio olfattive o uditive. Si tratta di appaiare, durante la codifica, un *cue* sensoriale ad un'informazione da apprendere, come una parola. Dopodiché il *cue* viene ripresentato da solo durante il successivo sonno. Alla base della TMR c'è l'idea che il *cue*, se ripresentato durante il sonno, vada a riattivare l'informazione appresa, alla quale il *cue* era stato legato, favorendone il consolidamento (Cellini & Mednick, 2018).

La TMR ha un'influenza anche su alcune onde legate al consolidamento della memoria. Ad esempio, la TMR aumenta l'ampiezza, la potenza e la densità delle oscillazioni lente, così come la potenza e la densità degli *spindles*, e migliora il loro appaiamento (Brodt et al., 2023).

Molti studi mostrano l'efficacia della TMR. Rasch e colleghi (2007) dimostrano come la stimolazione olfattiva può promuovere la memoria visuo-spaziale, soprattutto se presentata durante lo SWS. Infatti, la presentazione di stimoli sensoriali durante il sonno aumenta la quantità di onde delta a livello frontale e di *spindles* veloci a livello parietale (Rihm et al., 2014). Inoltre, la TMR promuove anche la memoria verbale (Schreiner & Rasch, 2014), le abilità motorie (Antony et al., 2012) e l'estinzione alla paura (Hauner et al., 2013), mostrando quindi un'efficacia anche sulla memoria procedurale e sulla memoria emotiva. Tuttavia, questi ultimi

due risultati sono poco chiari: essi sembrano dipendere da diversi paradigmi utilizzati o da forti differenze intraindividuali (Brodt et al., 2023).

Come già detto, le stimolazioni possono essere anche uditive. Le stimolazioni uditive hanno diversi punti di forza rispetto a quelle olfattive. Infatti, si possono usare molti e diversi suoni in un esperimento. Essi possono essere rilasciati in un preciso momento, quindi avere una buona accuratezza temporale, e possono avere un legame semantico con l'informazione da apprendere (Cellini & Mednick, 2018). Anche i risultati della stimolazione uditiva sono poco chiari. Infatti, alcuni studi mostrano un effetto di questo tipo di stimolazione sia per la memoria verbale, che visuo-spaziale, che per quella procedurale (Schönauer et al., 2014), mentre altri studi non riportano alcun effetto di questa stimolazione sulla memoria (Schouten et al., 2017).

2.5.2 Stimolazione ritmica

La stimolazione ritmica è un tipo di stimolazione uditiva che si basa sull'idea della TMR. A differenza della TMR, la stimolazione ritmica usa delle sequenze ritmiche di suoni senza significato per promuovere le oscillazioni lente. Questi suoni sono senza significato in quanto non vengono mai appaiati ad un'informazione durante la codifica, ma vengono presentati per la prima volta durante il sonno. L'obiettivo della stimolazione ritmica è promuovere le oscillazioni durante il sonno presentando degli stimoli uditivi, che abbiano una frequenza simile a quella delle oscillazioni che si vogliono favorire.

In uno studio (Ngo et al., 2013), in cui è stata applicata la stimolazione ritmica, sono stati presentati dei suoni attraverso delle cuffie in due diverse condizioni. In una il suono presentato era a 0,8 Hz, mentre nell'altra condizione il suono era caratterizzato da frequenze casuali. I suoni venivano presentati con degli intervalli che potevano variare dai 1,25 ai 5 secondi, in maniera casuale. È stato notato che la stimolazione ritmica uditiva a 0,8 Hz aumentava l'ampiezza e la quantità delle oscillazioni lente presenti nel sonno NREM dei soggetti. Questo effetto non si notava quando i suoni erano inviati con una frequenza casuale o nella condizione di controllo, in cui non veniva presentato nessun suono. Effetti simili sono stati riscontrati in un altro studio (Antony et al., 2018) in cui venivano presentati suoni a 12 Hz e a 15 Hz (con frequenze simili agli *spindles*) durante il sonno NREM. È stato visto che la stimolazione uditiva a 12 Hz promuoveva gli *spindles* lenti, mentre quella a 15 Hz promuoveva gli *spindles* veloci.

2.5.3 *Closed-loop auditory stimulation (CLAS)*

Successivamente alla stimolazione ritmica, si sviluppò un altro tipo di stimolazione uditiva chiamata *open-loop stimulation*. Quest'ultima stimolazione fu applicata in uno studio di Weigenand e colleghi (2016). In questo esperimento vengono presentate sequenze caratterizzate da tre “*click*” della durata di 50 ms ciascuno, durante N3. Il primo suono serve ad elicitare un'oscillazione lenta. Il secondo ed il terzo vengono presentati in momenti in cui la loro probabilità di coincidere con un *up-state* di un'oscillazione lenta, evocata dal primo suono, è massima. Sebbene sia stata osservata una crescita dell'ampiezza delle oscillazioni lente, la prestazione del compito di memoria nei soggetti in condizione sperimentale si è dimostrata uguale a quelli nella condizione di controllo. Questo studio dimostra come il tempismo sia importante nell'applicazione di una stimolazione uditiva, soprattutto per quanto riguarda il processo di riattivazione della memoria.

Per ovviare al problema del tempismo è stata introdotta un'altra tecnica di stimolazione, chiamata *closed-loop auditory stimulation*. L'idea alla base di questa tecnica è che inviando una stimolazione uditiva durante una predeterminata fase dell'oscillazione lenta, l'ampiezza e l'attività di quest'ultima aumenterebbe, favorendo così il consolidamento della memoria. La maggior parte degli studi ha utilizzato come stimolazione uditiva il rumore rosa (*pink noise*). Il rumore rosa è un tipo di rumore che si distribuisce casualmente nelle bande a bassa frequenza. Questa tipologia di suoni è capace di promuovere la sincronizzazione delle oscillazioni lente durante il sonno, determinando così un aumento della SWA. Uno studio di Zhou e colleghi (2012) ha dimostrato l'efficacia del *pink noise* nel ridurre la complessità delle oscillazioni e nell'indurre un sonno più stabile, promuovendone la qualità. Inoltre, come già detto, il tempismo dell'applicazione della stimolazione uditiva è molto importante. Perciò, gran parte degli studi invia la stimolazione uditiva durante l'*up-state* delle oscillazioni lente. Infatti, l'*up-state* si è rivelato essere fondamentale per il processo di consolidamento della memoria, in quanto esso promuove la generazione di *spindles* e di *ripples* durante il sonno (vedi paragrafo 2.3.1).

In uno studio di Ngo e colleghi (2013) è stata applicata la *closed-loop stimulation*. I ricercatori hanno sviluppato un sistema che fosse in grado di rilevare online l'attività delle oscillazioni lente e di inviare, durante l'*up-state* delle oscillazioni lente, una stimolazione uditiva. In questo caso il suono era un *pink noise* della durata di 50 ms. Il sistema utilizzato si basa su un algoritmo che individua quando il *down-state* dell'oscillazione lenta supera una determinata soglia di ampiezza. Sulla base di questa informazione l'algoritmo stima, a seconda di ogni individuo, quando avverrà il successivo *up-state* dell'oscillazione lenta e invia la

stimolazione uditiva (Figura 2.6). Si è potuto notare come i soggetti sottoposti alla stimolazione uditiva per due notti presentavano maggiore ampiezza delle oscillazioni lente, maggiore attività degli *spindles* appaiati agli *up-state* e una migliore prestazione in un compito di memoria dichiarativa. Invece, una stimolazione uditiva fuori fase, che non avviene contemporaneamente all'*up-state* delle oscillazioni lente, ha interferito con le oscillazioni lente e non ha apportato alcun miglioramento nella memoria.

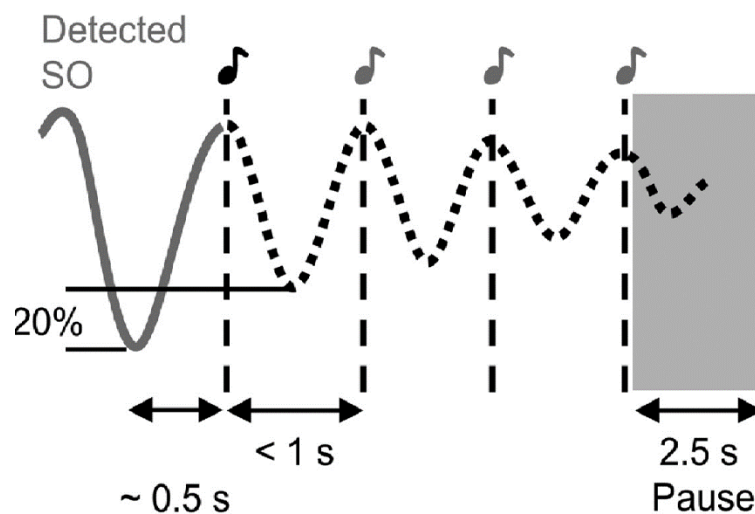


Figura 2.6 Esempio di *closed-loop auditory stimulation*. Tratto da Ngo et al., (2015).

Santostasi e colleghi (2015) hanno sviluppato un nuovo sistema per il CLAS. Questo sistema è composto da un algoritmo che si basa sul *phase-locked loop* (PLL). Il PLL stima una predeterminata fase delle oscillazioni lente in tempo reale, inviando così una stimolazione uditiva. Questo sistema è stato utilizzato da diversi gruppi di ricerca. Ad esempio, in un esperimento su giovani adulti è stato applicato il PLL per inviare una stimolazione uditiva (*pink noise* di 50 ms) durante l'*up-state* delle oscillazioni lente (Ong et al., 2016). Nello studio i suoni sono stati inviati a blocchi di 5 (uno per ogni *up-state*) con una pausa di altri 5 *up-state*. Inoltre, l'esperimento è stato condotto durante un sonnello di 90 minuti. Dai risultati è emerso un aumento dell'attività delle oscillazioni lente, delle onde theta e degli *spindles* veloci, oltre che una miglior ritenzione della memoria dichiarativa rispetto ai soggetti di controllo. Papalambros e colleghi (2017) hanno replicato lo stesso esperimento di Ong e colleghi (2016), applicandolo però ad una popolazione anziana. L'unica differenza è che in questo esperimento i soggetti non hanno effettuato un sonnello, ma hanno dormito per 8 ore. Anche in questo studio i risultati

sono promettenti, in quanto mostrano un aumento della SWA e dell'ampiezza delle oscillazioni lente. Inoltre, si nota anche una miglior prestazione nel compito di memoria dichiarativa rispetto ai controlli. Questo miglioramento nella rievocazione delle parole precedentemente apprese correla con l'aumento della SWA. Questo studio dimostra per la prima volta che la stimolazione uditiva influenza la SWA e che può migliorare la rievocazione della memoria dichiarativa anche negli anziani. Infatti, solitamente gli anziani presentano una minore quantità di SWS e minor SWA. Nonostante ciò, la stimolazione uditiva riesce a migliorare il sonno e il consolidamento della memoria.

Un altro studio (Leminen et al., 2017) ha sottoposto dei soggetti a due notti consecutive di CLAS utilizzando il sistema PLL. Questa volta, a differenza dei precedenti studi, non venivano inviati dei *pink noise* consecutivi, ma solamente uno della durata di 50 ms. I *pink noise* venivano inviati durante l'*up-state* delle oscillazioni lente. I risultati mostrano che la stimolazione uditiva ha aumentato la SWA e l'attività degli *spindles*, migliorando anche la prestazione nel compito di memoria verbale.

Un altro gruppo di ricerca (Debellemaniere et al., 2018) ha applicato la CLAS attraverso un dispositivo EEG ambulatoriale, il *Wireless Dreem Device* (WDD). Lo studio aveva due obiettivi principali: il primo era valutare la qualità del WDD rispetto alla polisonnografia, il secondo era testare gli effetti della CLAS su un gruppo di 28 partecipanti per 10 notti consecutive. La seconda parte dell'esperimento è stata condotta a casa dei partecipanti per tutte le 10 notti. La stimolazione uditiva consisteva in due *pink noise* consecutivi di 50 ms ciascuno, rilasciati durante le oscillazioni lente. In particolare, il *pink noise* veniva rilasciato in una fase che va dal *down* all'*up-state*, ovvero a 45° in fase ascendente (dove l'*up-state* è a 90° e il *down-state* a 270°). I risultati della prima parte dell'esperimento dimostrano che il WDD ha una buona qualità di acquisizione del segnale rispetto alla polisonnografia, una buona abilità nel rilevare N3 in tempo reale e una buona precisione nel rilasciare la stimolazione uditiva. I risultati della seconda parte dell'esperimento mostrano che la stimolazione uditiva aumenta l'ampiezza delle oscillazioni lente, in accordo con i precedenti studi. Inoltre, lo studio mostra che l'aumento della SWA, dopo la stimolazione uditiva, persiste in ugual modo dopo 10 giorni di stimolazione. Questo indica che il cervello non si adatta alla stimolazione uditiva, almeno non in 10 giorni, e continua a rispondere ad essa allo stesso modo del primo giorno di stimolazione.

CAPITOLO 3

LA RICERCA

3.1 Introduzione

Come affermato nei capitoli precedenti, il sonno ha un ruolo fondamentale nel consolidamento della memoria. In particolare, la memoria dichiarativa viene rafforzata durante lo SWS, attraverso la riattivazione, dall'ippocampo alla corteccia, delle tracce mnestiche (Klinzing et al., 2019). Come già accennato, sono state sviluppate delle tecniche di stimolazione uditiva non invasiva durante il sonno, come la CLAS. Queste tecniche hanno l'obiettivo di promuovere le onde implicate nel consolidamento della memoria dichiarativa, come oscillazioni lente e *spindles*, apportando beneficio alla memoria. Numerosi studi (Debellemaniere et al., 2018; Leminen et al., 2017; Ngo et al., 2013; Papalambros et al., 2017; Santostasi et al., 2015) dimostrano che applicando la CLAS, durante l'*up-state* o durante il passaggio da *down* ad *up-state* delle oscillazioni lente, si osserva un aumento dell'ampiezza e della quantità di oscillazioni lente, e un aumento dell'attività degli *spindles*. Questi incrementi dell'attività di alcune onde cerebrali portano ad un conseguente miglioramento della memoria dichiarativa.

Sebbene numerosi studi presenti in letteratura riportino i benefici della CLAS nella popolazione, sia giovane (Debellemaniere et al., 2018; Leminen et al., 2017; Ngo et al., 2013; Santostasi et al., 2015) che anziana (Papalambros et al., 2017), nessuno ha ancora riportato gli effetti a lungo termine, ad esempio a distanza di giorni dalla stimolazione, della CLAS sulla memoria. Inoltre, sono pochi gli studi che hanno applicato la CLAS utilizzando dispositivi ambulatoriali in *setting* domestici, come il Dreem Headband. Infatti, questo dispositivo EEG portatile consente di registrare ed analizzare l'architettura del sonno direttamente a casa del partecipante, quindi in un ambiente ecologico.

Il presente studio intende apportare ulteriori risultati riguardo al ruolo della stimolazione uditiva (CLAS), utilizzando il DH in un *setting* domestico, sul consolidamento della memoria dichiarativa, in particolare nell'associazione tra non-parole e le rispettive traduzioni in italiano, e nell'apprendimento delle parole presentate in italiano. Inoltre, si vuole investigare l'effetto a lungo termine di una notte di stimolazione sulla prestazione di memoria. Infine, si vuole valutare se la stimolazione ha un effetto sulla macrostruttura del sonno e sulla sua efficienza.

Una prima ipotesi è che ci sia un effetto della stimolazione acustica sulla ritenzione di memorie. Quindi ci si aspetta una differenza nella prestazione di memoria la mattina dopo l'apprendimento (T1) tra i soggetti nella condizione Stimolazione e i soggetti nella condizione Controllo. In particolare, nella condizione Stimolazione si dovrebbe avere un minor decadimento mnestico, sia per quanto riguarda le associazioni tra parole e non-parole che per l'apprendimento di non-parole, che siano associate correttamente o meno. Questa ipotesi è sostenuta da diversi studi che hanno utilizzato la CLAS e hanno trovato una migliore prestazione in un compito di memoria di coppie di parole rispetto ai soggetti in condizione Controllo (Leminen et al., 2017; Ngo et al., 2013).

Nella seconda ipotesi si presume che l'effetto di una notte di stimolazione acustica sia visibile anche a lungo-termine, ovvero circa 48 ore dopo la notte di stimolazione. Per questo, ci si aspetta una differenza di prestazione di memoria in T2 tra i soggetti nella condizione Stimolazione e quelli nella condizione Controllo. I soggetti nella condizione Stimolazione dovrebbero riportare un minor decadimento mnestico, e quindi una minore differenza tra T2 e T1, rispetto ai soggetti di controllo, sia per quanto riguarda l'associazione tra parole e non-parole, che per l'apprendimento di non-parole. Tuttavia, come già accennato in precedenza, nessuno studio è stato condotto sugli effetti a lungo-termine della CLAS. Perciò, questo studio può essere utile per comprendere se si possono avere effetti duraturi anche solo dopo una notte di stimolazione acustica, o, se essi sono solamente temporanei.

Come terza ipotesi si prevede che la stimolazione acustica abbia effetti sulla macrostruttura del sonno. Questa ipotesi si basa sui diversi studi condotti con la CLAS che mostrano, oltre ad un aumento degli *spindles* e dell'ampiezza delle oscillazioni lente, anche un aumento dell'attività delle oscillazioni lente (SWA) (Leminen et al., 2017; Papalambros et al., 2017; Santostasi et al., 2015). In base ai risultati dei precedenti studi si assume che, nei soggetti sottoposti alla condizione Stimolazione si dovrebbe avere un aumento di N3 nella seconda notte di sonno, ovvero quella sottoposta alla CLAS, rispetto che nella prima notte di adattamento, in cui non viene inviata nessuna stimolazione acustica. Inoltre, basandosi su uno studio condotto da Zhou e colleghi (2012), la stimolazione acustica potrebbe anche avere effetti sull'efficienza del sonno, ovvero il rapporto tra il tempo effettivo di sonno e il tempo trascorso a letto. Ci si aspetta che i soggetti nella condizione Stimolazione abbiano una migliore efficienza del sonno nella seconda notte, in cui erano sottoposti a stimolazione, rispetto che nella prima. Questo cambiamento nella macrostruttura del sonno e nell'efficienza non dovrebbe verificarsi nei soggetti in condizione di controllo.

3.2 Metodo

3.2.1 Partecipanti

Per l'esperimento sono stati reclutati 22 partecipanti, di cui 16 femmine e 6 maschi di età compresa tra i 18 e i 35 anni, con una media di 24.9 ± 3.5 anni. Sono stati scelti tutti partecipanti sani, senza patologie neurologiche o psicologiche, come insonnia, disturbi dell'umore o d'ansia. Questo per evitare di avere risultati che si discostino dalla media a causa di una diversa architettura del sonno o di differenti prestazioni cognitive. Inoltre, sono stati scelti tutti soggetti madrelingua italiana. Prima di iniziare l'esperimento ogni partecipante ha compilato il consenso informato e una batteria di questionari online atti ad indagare la sonnolenza, la qualità del sonno, la preferenza circadiana, presenza di sintomatologia depressiva e ansiosa e sulla metamemoria. È stato chiesto loro di mantenere orari di addormentamento e di risveglio più stabili possibile per tutta la durata dell'esperimento. Per monitorare ciò, a partire dal secondo giorno dell'esperimento, i partecipanti hanno compilato ogni mattina un diario del sonno.

3.2.2 Strumenti di misurazione

Gli strumenti di misurazione utilizzati in questo studio sono due: il Dreem Headband (Rythm SAS, Parigi, Francia), una fascia EEG wireless da indossare sul capo durante il sonno, e l'attigrafo GENEActiv (Activinsights, Kimbolton, UK).

Il DH permette di analizzare cinque diversi tipi di segnali fisiologici: l'attività cerebrale attraverso degli elettrodi EEG, i movimenti, la posizione del corpo, la frequenza respiratoria e la frequenza cardiaca. Attraverso questi dati il DH riesce ad eseguire una stadiazione del sonno in maniera automatica. Il DH ha anche la possibilità di applicare la CLAS durante il sonno, ovvero di presentare una stimolazione acustica automatizzata durante lo SWS con lo scopo di beneficiare il consolidamento della memoria. Infatti, il DH possiede un sistema audio sulla fascia frontale che invia suoni tramite conduzione ossea. Attraverso il suo algoritmo, il DH può individuare l'*up-state* delle oscillazioni lente e inviare dei brevi stimoli sonori (*pink noise*) di 100 ms con un volume di circa 35-40 dB, così da evitare risvegli. Il numero di stimolazioni ricevute varia da soggetto a soggetto a seconda degli *up-state* delle oscillazioni lente rilevati dall'algoritmo. L'abilitazione o meno di questa funzione è possibile tramite l'applicazione.

I soggetti hanno dovuto scaricare un'applicazione sul proprio *smartphone* attraverso la quale hanno potuto connettere il DH al loro dispositivo tramite *Bluetooth*. In questo modo, una volta terminata la registrazione del sonno, i dati potevano essere trasportati dal DH

all'applicazione. Inoltre, dovevano connettere anche il loro wi-fi all'applicazione, in modo che i dati passassero poi dall'applicazione ai server. I partecipanti dovevano dormire con il DH solamente per le prime due notti dell'esperimento.

Le ore di sonno e di attività dei partecipanti durante l'esperimento venivano valutate con l'attigrafo. L'attigrafo è uno strumento da indossare al polso costituito da diversi sensori, tra cui un accelerometro che permette di rilevare i movimenti. Esso è molto utilizzato negli studi sul sonno, poiché permette di distinguere periodi con assenza di movimento da periodi con presenza di movimento, così da identificare le fasi di sonno e quelle di veglia. L'attigrafo utilizzato riporta diverse misure, come i movimenti dei soggetti nei tre assi (orizzontale, verticale e sagittale), la temperatura corporea, la luce esterna e lo stato del bottone.

In questo studio i partecipanti dovevano indossare l'attigrafo, sul polso della mano non dominante, dal primo al quinto giorno di esperimento. Inoltre, ai partecipanti veniva chiesto di premere il bottone prima di togliere l'attigrafo (ad esempio prima di entrare in doccia o prima di fare sport di contatto) e ripremerlo una volta rimesso, così come prima di andare a letto e una volta svegliati. Il bottone serviva solamente da *marker*, così da capire quando l'attigrafo non veniva indossato e per valutare l'orario di addormentamento e di risveglio dei partecipanti. I dati degli attigrafi sono stati raccolti attraverso il software GENEActiv con delle epoche di 30 secondi.

3.2.3 Task

In questo studio, il compito utilizzato per misurare la memoria dichiarativa è stato di associazioni di parole, chiamato qua *Word-Paired Language Task* (WPL). Il WPL consiste nell'apprendimento di coppie di parole, in cui una parola è inventata e l'altra è la sua traduzione in italiano. Il *task* ha due versioni (*set A* e *set B*) con parole differenti di difficoltà equivalente. I soggetti sono stati assegnati alla versione del WPL secondo un ordine controbilanciato.

Prima di iniziare il WPL, i partecipanti hanno dovuto svolgere un altro compito, chiamato *Psychomotor Vigilance Task* (PVT; Loh et al., 2004). Il PVT è un compito che serve a misurare la vigilanza psicomotoria del soggetto in quel momento. In questo compito è stata usata la versione da 5 minuti. I soggetti devono premere la barra spaziatrice appena vedono apparire dei numeri sullo schermo, i quali indicano il tempo impiegato dal soggetto a premere il pulsante. Questo compito serve per valutare oggettivamente se la prestazione nel WPL è intaccata dalla vigilanza del soggetto.

Successivamente, viene presentata anche una scala, la *Karolinska Sleepiness Scale* (KSS) (Åkerstedt & Gillberg, 1990), per valutare la sonnolenza auto percepita dal soggetto negli ultimi

10 minuti (range: 1 = estremamente vigile – 9 = estremamente sonnolento/a, mi sforzo di non dormire). Poi ha inizio il WPL. Il compito di memoria dichiarativa è costituito da una prima fase di apprendimento in cui vengono presentate, in forma acustica, 40 parole inventate insieme alle rispettive 40 parole tradotte in italiano, presentate in forma scritta. Le parole inventate sono costituite da un minimo di due sillabe e da un massimo di quattro sillabe e non hanno similarità semantiche con nessuna parola italiana (es. toripla-miele). In seguito alla presentazione di una coppia di parole, viene chiesto al partecipante di scrivere la traduzione in italiano appena letta (Esposizione). Il partecipante riceverà poi un *feedback* (Giusto o Sbagliato) per ogni parola scritta in italiano. Dopodiché riascolterà la parola inventata e contemporaneamente sarà presentata la sua traduzione corretta. Ogni volta il partecipante avrà dieci secondi per scrivere la parola, dopodiché verrà considerata come sbagliata. Successivamente avviene l'allenamento, in cui vengono presentate in forma acustica solamente le 40 parole inventate. Il soggetto deve scrivere la loro traduzione in italiano, poi riceverà un *feedback* (Giusto o Sbagliato). Poi, come nella fase di apprendimento, il soggetto riascolterà la parola inventata e contemporaneamente sarà presentata la sua traduzione corretta. L'allenamento si ripete per tre volte (Apprendimento 1, Apprendimento 2, Apprendimento3), ognuna delle quali è intervallata da 1 minuto di pausa. La terza fase del WPL è costituita dal test (T0). Esso ha la stessa struttura dell'allenamento, ma il soggetto, una volta scritta la traduzione in italiano, non riceverà alcun *feedback*. Nei giorni successivi invece, non verrà presentato il WPL completo, ma solamente la parte del test. L'ordine di presentazione delle coppie di parole, sia nella fase di apprendimento, che di allenamento, che di test, è casuale.

Entrambi i *tasks*, PVT e WPL, sono stati creati in Psychopy2 (Pierce et al., 2019) e trasferiti successivamente sulla piattaforma Pavlovia, in modo da renderli accessibili online.

Per quanto riguarda il PVT, è stata calcolata la media dei tempi di reazione (in ms) di ciascun soggetto. Mentre per quanto riguarda il WPL, è stata calcolata sia l'accuratezza, ovvero quante parole inventate erano accoppiate correttamente con le loro traduzioni in italiano, che il numero di parole ricordate in totale, a prescindere se fossero accoppiate correttamente o meno. Nella correzione le parole con errori di battitura (es. “disatsro” invece di “disastro”) che non alteravano il significato sono state considerate come corrette.

3.2.4 Procedura

L'esperimento ha avuto una durata totale di cinque giorni ed è stato condotto interamente a casa dei partecipanti. Per la somministrazione dei *tasks* i partecipanti dovevano connettersi via Zoom con lo sperimentatore.

Il progetto è stato approvato dal Comitato Etico della ricerca psicologica Area 17 dell'Università di Padova, in accordo con i principi della Dichiarazione di Helsinki.

Prima di iniziare l'esperimento, ogni partecipante firmava digitalmente il consenso informato. In seguito, i soggetti compilavano online una serie di questionari creati in *Google Forms*. In questo gruppo di questionari inizialmente venivano chieste alcune informazioni demografiche e informazioni riguardo il loro sonno, le preferenze circadiane, gli stati emotivi e la metamemoria. Più dettagliatamente, i questionari somministrati sono: *l'Epworth Sleepiness Scale* (ESS) (Johns, 1991), il *Pittsburgh Sleep Quality Index* (PSQI) (Buysse et al., 1989), *l'Insomnia Severity Index* (ISI) (Morin, 1993), il *Morningness–Eveningness Questionnaire reduced version* (rMEQ) (Natale et al., 2006), il *Depression, Anxiety and Stress Scale - 21 Items* (DASS-21) (Lovibond & Lovibond, 1995) e il *Multifactorial Memory Questionnaire* (MMQ) (Troyer & Rich, 2002). L'ESS è un questionario autovalutativo composto da 8 domande per la stima della propensione alla sonnolenza durante diverse attività giornaliere. Il PSQI è un questionario che valuta la qualità del sonno prendendo in considerazione l'ultimo mese. L'ISI è uno strumento di screening per l'insonnia, in cui si fanno domande sulla severità dei sintomi e sulla loro influenza sulle attività giornaliere. Il rMEQ è un questionario che valuta il cronotipo, quindi la tendenza ad essere attivi in un determinato periodo della giornata. Il DASS-21 è un questionario autovalutativo formato da 21 items che misurano la depressione, l'ansia e lo stress. Il MMQ è un questionario per la valutazione della metamemoria, ovvero la conoscenza che un individuo ha della propria memoria. Il MMQ è diviso in tre scale che misurano rispettivamente la soddisfazione per il funzionamento della propria memoria, le abilità mnemoniche e le strategie utilizzate.

Inoltre, ogni mattina, dal secondo al quinto giorno di esperimento, i partecipanti compilavano un diario del sonno, creato anch'esso in *Google Forms*. Nel diario del sonno erano presenti domande riguardo alla notte di sonno appena compiuta. Ad esempio, si chiedeva al partecipante a che ora era andato a dormire, quanto era stanco, quanto ci aveva messo ad addormentarsi, a che ora si era svegliato e se aveva dormito o meno con il DH. Se il partecipante riportava di aver dormito con il DH, si facevano anche domande riguardo a quanto la fascia EEG aveva disturbato il sonno, e se il soggetto aveva sentito suoni durante la notte. Quest'ultima domanda serviva a controllare che, qual ora il soggetto avesse ricevuto la stimolazione acustica, il suo sonno non fosse stato disturbato da suoni provenienti dal DH.

Dopo aver somministrato i questionari e il consenso informato, lo sperimentatore incontrava i partecipanti e consegnava loro il DH e l'attigrafo, fornendo spiegazioni sul corretto utilizzo dei due strumenti. Dopodiché poteva aver inizio l'esperimento.

Lo studio consiste in un disegno *between subjects* che comprende due condizioni: Stimolazione e Controllo. I partecipanti sono stati sottoposti solamente ad una delle due condizioni secondo un ordine controbilanciato. Nella condizione di stimolazione i partecipanti sono stati esposti ad una notte di stimolazione acustica (CLAS) attraverso il DH. In questa condizione, ai partecipanti veniva chiesto di abilitare la funzione “*Stimulations*” tramite l’applicazione prima di andare a dormire. La condizione Controllo è identica a quella di stimolazione, tranne che per la presentazione della stimolazione acustica, che non è avvenuta.

Il primo giorno i partecipanti, sia in condizione Stimolazione che in condizione Controllo, dovevano dormire con il DH per tutta la notte, senza alcuna stimolazione acustica. Questo serviva come notte di adattamento, per far sì che i soggetti si abituassero a dormire con la fascia EEG. Il giorno successivo, in una fascia oraria compresa tra le 18:00 e le 19:00, i partecipanti e lo sperimentatore si incontravano via Zoom. Lo sperimentatore inviava, tramite un *link* su Zoom, i due *tasks* (PVT e WPL). Per primo, i soggetti completavano il PVT, in quanto serviva a misurare la loro vigilanza psicomotoria in quel momento. Successivamente, veniva somministrato il WPL, che si divide in: presentazione del KSS, per valutare la sonnolenza auto percepita dal partecipante, una fase di apprendimento di coppie di parole, una fase di allenamento, che si ripete tre volte, e il test finale (T0). La durata totale di questa prima parte era di circa 45 minuti. Poi i partecipanti dovevano dormire con il DH per tutta la notte. Questa volta chi faceva parte della condizione Stimolazione riceveva delle stimolazioni acustiche durante la notte, mentre chi faceva parte della condizione Controllo non riceveva alcuna stimolazione. La mattina seguente, in un orario compreso tra le 08:00 e le 09:00, i partecipanti e lo sperimentatore si incontravano nuovamente via Zoom. Ai partecipanti veniva somministrato il PVT e il test del WPL (T1), tramite cui veniva testata la ritenzione mnestica delle coppie di parole apprese la sera prima. La durata totale era di circa 15 minuti. Il quarto giorno i soggetti dovevano solamente compilare il diario del sonno, come ogni mattina, senza essere sottoposti ad alcun test. L’ultimo giorno, in una fascia oraria compresa tra le 08:00 e le 09:00, i partecipanti e lo sperimentatore si incontravano nuovamente su Zoom per testare la ritenzione delle coppie di parole apprese il secondo giorno di esperimento. Anche in questo caso ai soggetti veniva somministrato prima il PVT e poi il test del WPL (T2). Questo test veniva eseguito 48 ore dopo T1, per verificare la presenza di un effetto a lungo-termine della CLAS sulla ritenzione di memorie.

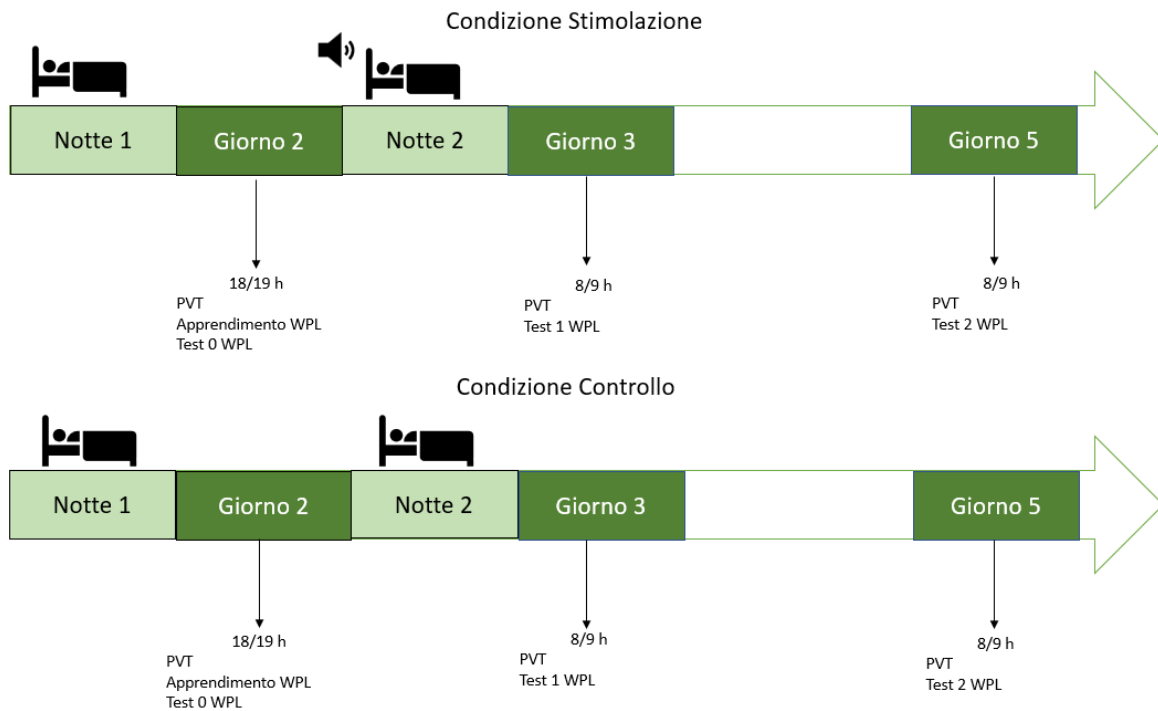


Figura 3.1 Rappresentazione del protocollo sperimentale. PVT: Psychomotor Vigilance Task; WPL: Word-Paired Language Task.

3.2.5 Analisi statistiche

Le variabili demografiche (età, genere), i punteggi ai questionari dello screening iniziale, e i parametri relativi al sonno dei due gruppi (Controllo e Stimolazione) sono stati riportati tramite media e deviazione standard, e sono stati confrontati attraverso t-test a campioni indipendenti e test del chi quadrato (χ^2). La prestazione media al PVT è stata riportata attraverso media e deviazione standard.

La prestazione mnestica è stata analizzata calcolando l'accuratezza percentuale, quindi quante non-parole erano accoppiate correttamente con la loro traduzione, e la percentuale di parole ricordate in italiano. Prima di tutto, è stato osservato l'andamento della prestazione mnestica, sia di coppie di parole che di parole singole (traduzioni in italiano), attraverso un modello lineare misto (*Linear Mixed Model*, LMM), con le sessioni del giorno di apprendimento (Apprendimento 1, Apprendimento 2, Apprendimento 3 e Test 0) ed il gruppo (Controllo, Stimolazione) come fattori fissi, e con il numero di partecipanti come fattore casuale.

Per valutare il cambiamento della prestazione di memoria tra i due gruppi e tra le tre sessioni è stata utilizzata un'ANOVA mista a due vie, con Gruppo (Controllo, Stimolazione) come fattore tra i partecipanti e Tempo (T0, T1 e T2) come fattore entro i partecipanti. Per l'ANOVA è stato riportato il valore di η_G^2 (eta quadrato generalizzato) come misura della grandezza dell'effetto. L'ANOVA è stata condotta per entrambe le variabili dipendenti (accuratezza e parole totali).

Successivamente, sono stati investigati i cambiamenti avvenuti tra i due gruppi tra T0 e T1 e tra T1 e T2; rispettivamente la differenza nella prestazione tra la mattina dopo la notte sperimentale (T1) e la sera prima della notte sperimentale (T0), e la differenza nella prestazione tra il test avvenuto 48 ore dopo T1 (T2) e la mattina dopo la notte sperimentale (T1). Perciò sono stati condotti due t-test a campioni indipendenti, confrontando $\Delta T1T0$ (calcolato come $T1/T0*100$) tra il gruppo Controllo e il gruppo Stimolazione e $\Delta T2T1$ (calcolato come $T2/T1*100$) tra i due gruppi. Anche queste analisi sono state condotte per entrambe le variabili dipendenti. Queste analisi sono servite ad investigare più approfonditamente le prime due ipotesi; ovvero se ci fosse un cambiamento maggiore nella prestazione del gruppo Stimolazione rispetto al gruppo Controllo dopo la notte sperimentale, e se questo cambiamento continuasse ad essere presente anche dopo 48 ore.

Per determinare gli effetti della stimolazione sulla macrostruttura del sonno e sulla sua efficienza sono stati condotti dei t-test a campioni appaiati sul gruppo Stimolazione, confrontando vari parametri del sonno, come l'efficienza in percentuale, la percentuale di tempo trascorso in N3 e la durata (minuti) di sonno NREM (N2 + N3), tra la notte di adattamento e la notte sperimentale, in cui i soggetti ricevevano delle stimolazioni. Per tutti i t-test è stato riportato il valore di Cohen's d come misura della grandezza dell'effetto.

È stata condotta un'ANOVA mista a due vie, con Gruppo (Controllo e Stimolazione) come fattore tra i partecipanti e Tempo (T0, T1, T2) come fattore entro i partecipanti sulla variabile "media" dei PVT, per controllare che non differisca in maniera significativa tra i due gruppi e tra le tre sessioni.

Infine, sono state effettuate delle correlazioni di Pearson tra i parametri del sonno nella notte sperimentale e i cambiamenti nella prestazione mnestica, di entrambe le variabili dipendenti, tra T1 e T0 ($\Delta T1T0$) in entrambi i gruppi. Delle analisi correlazionali di Pearson sono state condotte anche tra i parametri del sonno nella notte di adattamento e la prestazione mnestica iniziale (T0) in entrambe le variabili dipendenti, per osservare se ci fosse una relazione tra come il soggetto aveva dormito la notte precedente e la successiva codifica delle informazioni. Tramite correlazione di Pearson è stato valutato se ci fosse una relazione tra la media dei PVT

di ciascun soggetto e i test corrispondenti, per controllare se ci potesse essere un'influenza della prestazione del PVT, e quindi della vigilanza del soggetto al momento del test, sulla prestazione mnestica.

Tutte le analisi statistiche sono state condotte mediante l'utilizzo di Rstudio (Rstudio Team, 2020). Il livello di significatività per ogni analisi è stato fissato a $p < 0.05$.

3.3 Risultati

3.3.1 Partecipanti

Nella Tabella 3.1 vengono riportate le caratteristiche demografiche e i risultati dei vari questionari somministrati distinti per i due gruppi. Viene inoltre riportato un confronto tra le medie.

Tabella 3.1 *Caratteristiche demografiche e di tratto dei due gruppi*

	Controllo	Stimolazione	<i>t</i>	<i>p</i>	<i>d</i>
Età (anni)	25.90±4.43	23.90±2.25	1.332	0.202	0.568
Genere (F/M)	7/4	9/2	4.545*	0.033	
DASS-21	2.81±3.21	4±5.09	-0.65	0.524	-0.277
Ansia					
DASS-21	3.63±5.39	4.3±4.52	-0.342	0.735	-0.146
Depressione					
DASS-21	5.54±4.27	7.81±6.40	-0.979	0.340	-0.417
Stress					
PSQI	6.54±2.62	7.18±2.52	-0.58	0.568	-0.247
ISI	12.45±2.62	13.36±3.64	-0.672	0.51	-0.286
rMEQ	13.81±5.01	14.63±4.27	-0.411	0.685	-0.175
ESS	5.63±3.17	4.81±2.67	0.653	0.520	0.278
MMQ	48.45±8.73	46.36±10.74	0.500	0.622	0.213
Soddisfazione					
MMQ Abilità	51.36±14.26	53.18±11.91	-0.324	0.749	-0.138
MMQ	40.09±11.95	38.45±10.74	0.337	0.739	0.143
Strategie					

Note. Medie ± deviazioni standard delle variabili demografiche e di tratto. DASS-21: *Depression, Anxiety and Stress Scale - 21 Items*; PSQI: *Pittsburgh Sleep Quality Index*; ISI: *Insomnia Severity Index*; rMEQ: *Morningness–Eveningness Questionnaire reduced version*; ESS: *Epworth Sleepiness Scale*; MMQ: *Multifactorial Memory Questionnaire*. *Valore di χ^2 .

Dei 22 partecipanti che hanno costituito il campione, 15 erano studenti e 7 lavoratori. Nessuno dei partecipanti presenta sonnolenza evidenziata dall'ESS. La maggior parte dei partecipanti mostra un cronotipo intermedio (54%), 5 mostrano un cronotipo serotino (23%), e 5 mattutino (23%). Inoltre, per quanto riguarda l'ISI, la maggior parte dei partecipanti mostra un'insonnia sottosoglia, 3 partecipanti moderata, e solamente 1 non presenta insonnia. Rispetto al DASS-21, la maggior parte dei soggetti (73%) riporta un livello di depressione nella norma, 3 (14%) medio, 1 (4%) moderato, e 2 (9%) estremamente severo. Il livello di ansia riportato dalla maggior parte dei soggetti (68%) è nella norma, in 3 (14%) soggetti è medio, in 2 (9%) è moderato, e in 2 (9%) è estremamente severo. Il livello di stress è normale nella maggior parte dei soggetti (59%), medio in 4 (18%), moderato in 2 (9%), severo in 1 (5%), ed estremamente severo in 2 (9%).

Per quanto riguarda i due campioni, non ci sono notevoli differenze, tranne che nel genere, dove è visibile una differenza significativa tra il gruppo Controllo e il gruppo Stimolazione, con una maggiore quantità di femmine nel gruppo Stimolazione.

3.3.2 Vigilanza

L'ANOVA mista a due vie, con Gruppo (Controllo e Stimolazione) come fattore tra i partecipanti e Tempo (T0, T1, T2) come fattore entro i partecipanti sui tempi di reazione medi dei PVT non ha mostrato alcun effetto significativo del fattore Gruppo ($F_{1,20}=0.50$, $p=.48$, $\eta_G^2=0.014$), né del fattore Tempo ($F_{2,40}=0.09$, $p=.91$, $\eta_G^2<.005$), né dell'interazione tra fattore Gruppo e fattore Tempo ($F_{2,40}=3,15$, $p=.053$, $\eta_G^2=0.06$). Quindi, il livello medio di vigilanza dei partecipanti non differisce tra i due gruppi e nemmeno tra le diverse sessioni. Tuttavia, possiamo notare come con il passare del tempo, l'accuratezza media al PVT dei due gruppi sia diversa. Infatti, si osserva una tendenza dei tempi di reazione medi del gruppo Controllo a diminuire con il tempo e quelli del gruppo Stimolazione ad aumentare. Questo andamento potrebbe aver influenzato la prestazione mnemonica nei due gruppi.

Tabella 3.2 *Media e deviazione standard dei tempi di reazione medi del PVT nelle tre sessioni e nelle due condizioni*

	T0	T1	T2
Stimolazione	322.72±44.99	341.27±26.38	347.90±51.02
Controllo	339.18±41.70	328.72±33.01	316±41.24

Inoltre, sono state condotte delle analisi correlazionali di Pearson per valutare se ci fosse una relazione tra la prestazione media nel PVT in ciascuna sessione (T0, T1, T2) e la prestazione mnestica. Dalle analisi sono emerse delle deboli associazioni negative tra la media del PVT in T0 e l'accuratezza in T0 ($r=-0.24, p=0.28$), e delle correlazioni medie tra la media del PVT in T1 e l'accuratezza in T1 ($r=-0.33, p=0.12$) e tra la media del PVT in T2 e l'accuratezza in T2 ($r=-0.33, p=0.13$). Sebbene nessuna di esse risulti significativa, si può notare come al diminuire dei tempi di reazione medi del PVT, sia associata un'accuratezza maggiore.

3.3.3 Andamento prestazione mnestica

Il LMM sull'accuratezza ha mostrato un effetto significativo della Sessione ($F_{3,63}=90.79, p<.001$), con una prestazione migliore a mano a mano che si avanzava con il numero delle sessioni (da Apprendimento 1 a Test 0). Invece, non è stato evidenziato alcun effetto significativo del Gruppo sull'apprendimento ($F_{1,20}=0.18, p=.669$). Questo risultato indica che i due gruppi hanno avuto una prestazione simile durante l'apprendimento, arrivando, al T0, ad un'accuratezza di partenza simile.

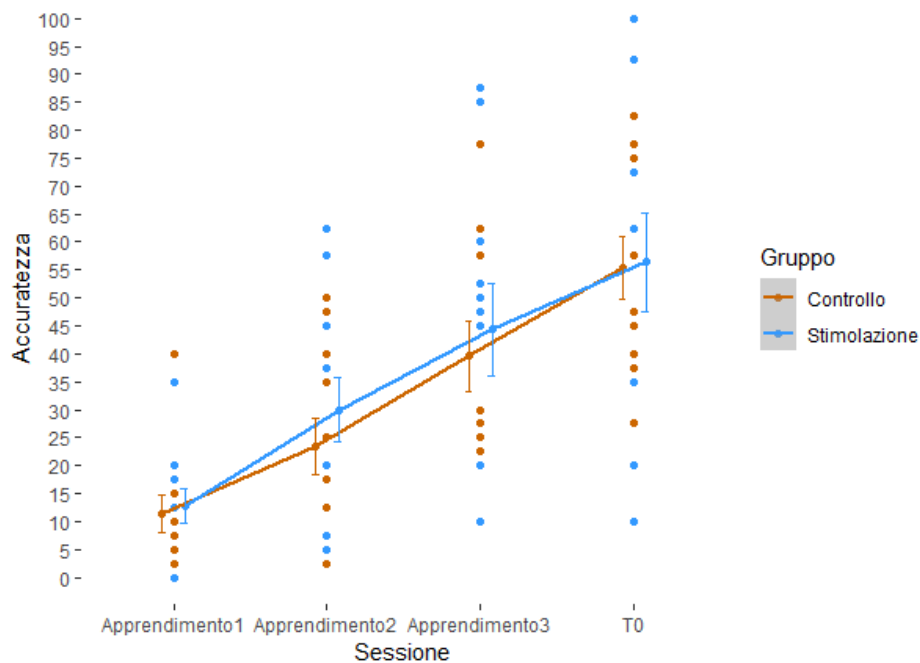


Figura 3.2 Andamento medio dell'accuratezza durante l'apprendimento nei due gruppi (Controllo, Stimolazione).

Note. Ogni puntino rappresenta un partecipante.

Il LMM sulle parole ha mostrato un effetto significativo della Sessione ($F_{3,63}=141.91$, $p<.001$), con una prestazione in continuo miglioramento (da Apprendimento 1 a Test 0). Non è stato osservato alcun effetto significativo del Gruppo sull'apprendimento di parole ($F_{1,20}=0.51$, $p=.479$), mostrando che i due gruppi hanno un apprendimento delle parole simile. Inoltre, come si immaginava, l'apprendimento delle parole singole è maggiore in entrambi i gruppi rispetto all'apprendimento di coppie di parole.

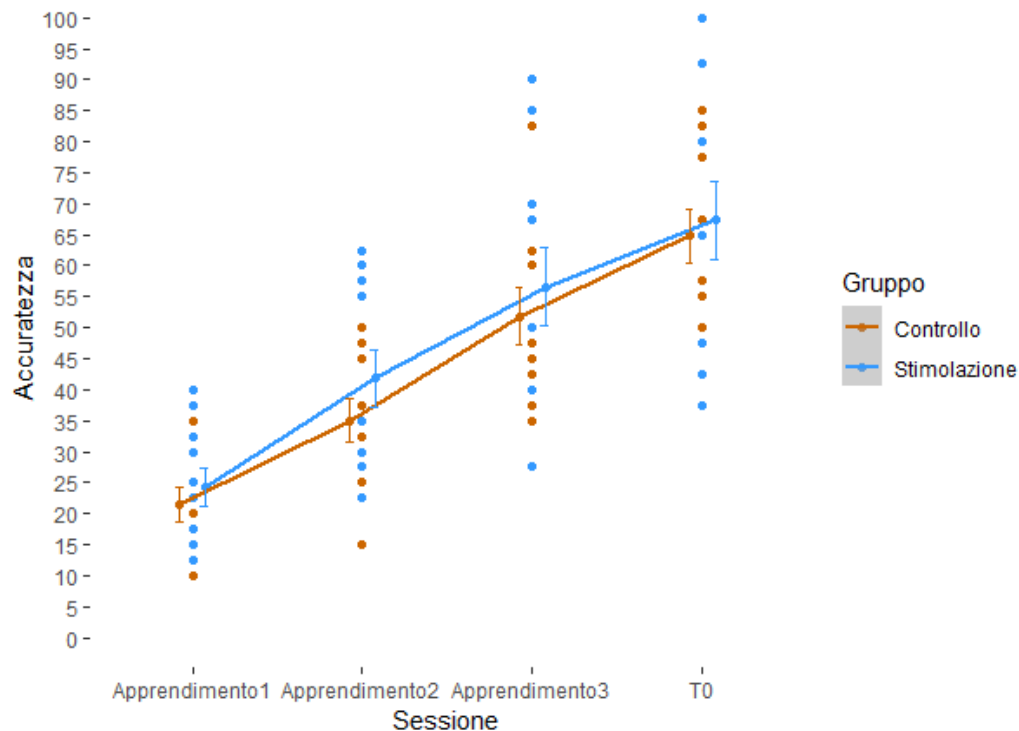


Figura 3.3 *Andamento medio delle parole durante l'apprendimento nei due gruppi (Controllo, Stimolazione).*

Note. Ogni puntino rappresenta un partecipante.

3.3.4 Prestazione mnestica

L'ANOVA mista a due vie eseguita sull'accuratezza con Gruppo come fattore tra i partecipanti (Controllo, Stimolazione) e Tempo come fattore entro i partecipanti (T0, T1, T2), non ha mostrato alcun effetto principale del fattore Gruppo statisticamente significativo ($F_{1,20}=0.04$, $p=.837$, $\eta_G^2<0.002$). Nemmeno l'effetto del fattore Tempo è risultato statisticamente significativo ($F_{2,40}=0.677$, $p=.513$, $\eta_G^2<0.001$). L'analisi non ha mostrato nemmeno un effetto statisticamente significativo dell'interazione a due vie Gruppo x Tempo ($F_{2,40}=0.917$, $p=.407$, $\eta_G^2<0.001$).

Perciò sembra che non ci sia alcuna differenza nell'accuratezza tra il gruppo Controllo e il gruppo Stimolazione in nessuna sessione del test. Inoltre, sembra che la prestazione mnestica non peggiori in maniera statisticamente significativa con l'avanzare del tempo.

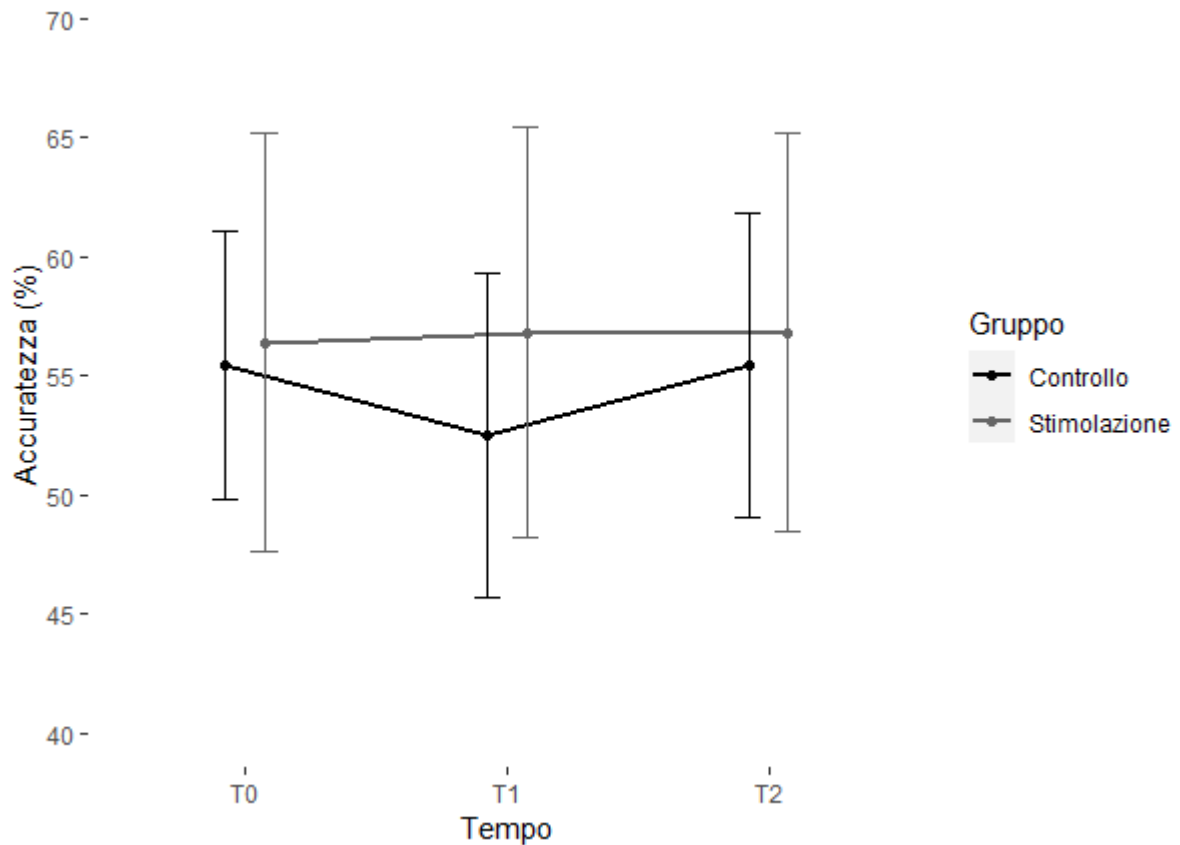


Figura 3.4 Accuratezza media nelle tre sessioni sperimentali (T0, T1, T2) e nelle due condizioni (Controllo, Stimolazione).

Tabella 3.3 Media e deviazione standard dell'accuratezza nelle tre sessioni e nelle due condizioni

	T0	T1	T2	$\Delta T1T0$	$\Delta T2T1$
Controllo	55.45±18.63	52.50±22.61	55.45±21.23	92.41±14.96	110.08±23.13
Stimolazione	56.36±29.14	56.81±28.63	56.81±27.86	105.08±19.43	100.85±6.68

Note. $\Delta T1T0$: cambiamento di prestazione in percentuale da T0 a T1. $\Delta T2T1$: cambiamento di prestazione in percentuale da T1 a T2.

Sono stati condotti due t-test a campioni indipendenti al fine di investigare se ci fosse una migliore prestazione nell'accuratezza nel gruppo Stimolazione rispetto che nel gruppo Controllo dopo la notte sperimentale (da T0 a T1), e se questa differenza continuasse ad essere presente anche dopo 48 ore (da T1 a T2).

Il t-test a campioni indipendenti che ha confrontato $\Delta T1T0$ nel gruppo Stimolazione e nel gruppo Controllo, ha mostrato una maggiore diminuzione dell'accuratezza nel gruppo Controllo, rispetto che nel gruppo Stimolazione, sebbene questa differenza non risulti statisticamente significativa ($t_{19}=-1.71$, $p=.051$, Cohen's $d=-0.73$). Questo risultato indica che il gruppo Controllo al tempo T1 riduce maggiormente la propria prestazione rispetto al tempo T0, al contrario del gruppo Stimolazione, che sembra migliorarla leggermente.

Il t-test a campioni indipendenti che ha confrontato $\Delta T2T1$ nel gruppo Stimolazione e nel gruppo Controllo, ha mostrato invece una minore diminuzione dell'accuratezza nel gruppo Controllo, rispetto che nel gruppo Stimolazione, sebbene questa differenza non risulti statisticamente significativa ($t_{12}=1.27$, $p=.114$, Cohen's $d=0.54$). Questo risultato sembra indicare che il gruppo Controllo al tempo T2 aumenta la propria prestazione rispetto al tempo T1, al contrario del gruppo Stimolazione, che sembra rimanere più stabile.

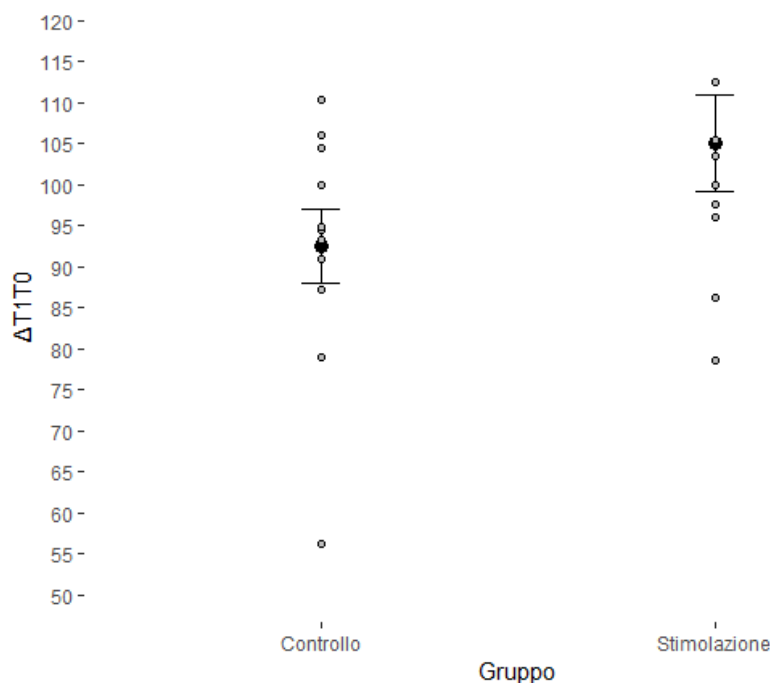


Figura 3.5 Cambiamento nell'accuratezza tra T0 e T1 ($\Delta T1T0$) tra le due condizioni.

Note. Ogni puntino rappresenta un partecipante.

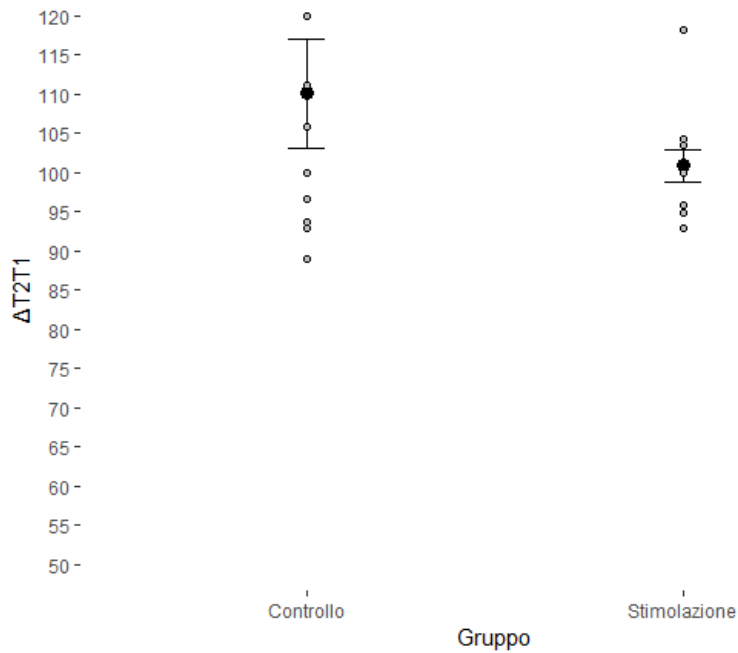


Figura 3.6 *Cambiamento nell'accuratezza tra T1 e T2 ($\Delta T2T1$) tra le due condizioni.*

Note. Ogni puntino rappresenta un partecipante.

Le stesse analisi sono state condotte anche sulle parole totali ricordate. L'ANOVA mista a due vie eseguita sulle parole totali ricordate con Gruppo come fattore tra i partecipanti (Controllo, Stimolazione) e Tempo come fattore entro i partecipanti (T0, T1, T2), non ha mostrato alcun effetto principale del fattore Gruppo statisticamente significativo ($F_{1,20}=0.05$, $p=.823$, $\eta_G^2<.005$). Non sono risultati statisticamente significativi nemmeno il fattore Tempo ($F_{2,40}=0.02$, $p=.974$, $\eta_G^2<.001$) e l'effetto interazione Gruppo x Tempo ($F_{2,40}=1.14$, $p=.329$, $\eta_G^2<.005$).

Quindi sembra che non ci sia alcuna differenza nelle parole italiane ricordate tra il gruppo Controllo e il gruppo Stimolazione in nessuna sessione del test. Inoltre, sembra anche non esserci un cambiamento nella prestazione dovuto al tempo.

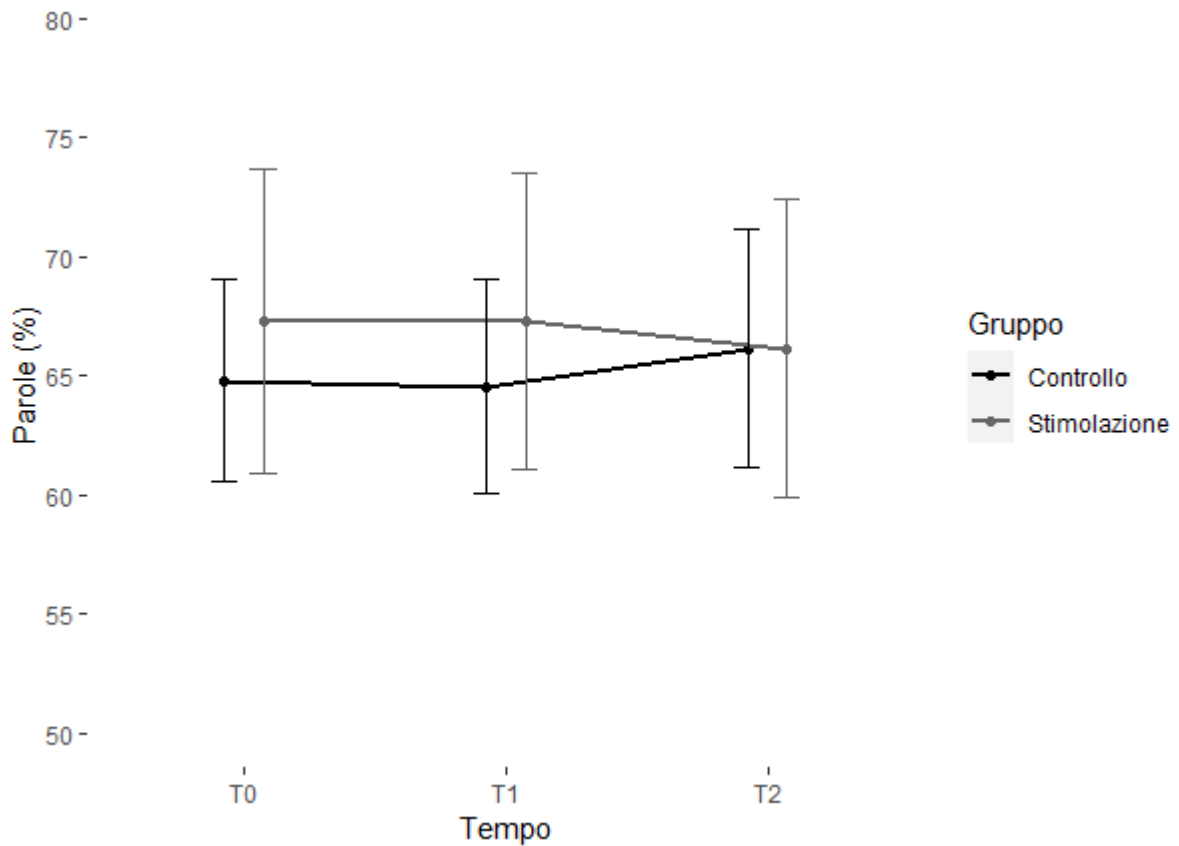


Figura 3.7 Parole percentuali medie nelle tre sessioni sperimentali (T0, T1, T2) e nelle due condizioni (Controllo, Stimolazione).

Tabella 3.4 Media e deviazione standard delle parole nelle tre sessioni e nelle due condizioni

	T0	T1	T2	$\Delta T1T0$	$\Delta T2T1$
Controllo	64.77±14.07	64.54±14.82	66.13±16.59	99.54±5.70	102.23±6.24
Stimolazione	67.27±21.28	67.27±20.56	66.13±20.86	100.85±9.83	98.02±6.93

Note. $\Delta T1T0$: cambiamento di prestazione in percentuale da T0 a T1. $\Delta T2T1$: cambiamento di prestazione in percentuale da T1 a T2.

È stato condotto un t-test a campioni indipendenti per confrontare $\Delta T1T0$ nel gruppo Stimolazione e nel gruppo Controllo. Questa analisi serviva ad investigare se ci fosse un miglioramento statisticamente significativo nelle parole totali ricordate del gruppo Stimolazione rispetto al gruppo Controllo dopo la notte sperimentale; quindi, da T0 a T1. Il test non ha mostrato alcuna differenza di cambiamento statisticamente significativa tra T0 e T1 tra i due gruppi messi a confronto ($t_{16}=-0.38$, $p=.353$, Cohen's $d=-0.16$). Perciò, si può vedere come

la prestazione nelle parole ricordate non cambi con il passare del tempo in nessuna delle due condizioni.

Inoltre, è stato condotto un t-test a campioni indipendenti per confrontare $\Delta T2T1$ nel gruppo Stimolazione e nel gruppo Controllo, per osservare un possibile effetto a lungo-termini della stimolazione sulle parole totali ricordate. Il t-test ha mostrato una maggiore diminuzione delle parole ricordate nel gruppo Stimolazione rispetto al gruppo Controllo tra il Tempo T1 e T2, anche se non statisticamente significativa ($t_{20}=1.43$, $p=.166$, Cohen's $d=0.61$).

3.3.5 Macrostruttura del sonno ed effetti della stimolazione

Dei 22 partecipanti iniziali, sono state scartate la notte di adattamento in un partecipante del gruppo Controllo e la notte sperimentale in un altro partecipante del gruppo Stimolazione a causa di una parziale registrazione del segnale EEG.

Nella Tabella 3.5 sono riportati i principali parametri del sonno, descritti con media e deviazione standard, della notte sperimentale dei due gruppi. Inoltre, sono stati fatti dei confronti tra i vari parametri tra la notte sperimentale del gruppo Stimolazione e quella del gruppo Controllo. I due gruppi hanno mostrato una differenza significativa ($p=.013$) per quanto riguarda la percentuale di sonno REM, che risulta essere maggiore nel gruppo Stimolazione.

Tabella 3.5 Parametri principali del sonno durante la notte sperimentale dei due gruppi

	Controllo	Stimolazione	t	p	Cohen's d
TIB (min)	441.25±90.21	465.83±40.85	-0.81	0.431	-0.342
TST (min)	412.68±80.40	426.65±46.45	-0.49	0.628	-0.209
SOL (min)	15.33±8.89	18.47±10.58	-0.73	0.472	-0.323
WASO (min)	7.54±10.29	13.55±16.93	-0.96	0.347	-0.433
SE (%)	93.70±3.33	91.48±3.00	1.60	0.125	0.695
N1 (min)	1.18±2.18	3.1±4.73	-1.17	0.262	0.52
N2 (min)	202.36±54.87	183.8±43.65	0.86	0.399	0.372
N3 (min)	103.31±29.62	103.25±25.30	0.005	0.995	0.002
REM (min)	111.95±39.66	140.8±27.72	-1.94	0.067	-0.835
NREM (min)	305.68±50.75	287.05±29.10	1.04	0.312	3.975

N1 (%)	0.24±0.45	0.77±1.26	-1.25	0.235	-0.569
N2 (%)	48.80±8.50	42.76±7.40	1.73	0.098	0.754
N3 (%)	25.90±8.50	24.67±7.57	0.35	0.729	0.152
REM (%)	26.62±5.89	32.80±4.47	-2.71	0.013	-1.171

Note. TIB = Time In Bed (tempo trascorso a letto); TST= Total Sleep Time (tempo totale di sonno); SE = Sleep Efficiency (efficienza del sonno); WASO= wake after sleep onset (durata dei risvegli durante la notte).

Come accennato in precedenza, per determinare se la stimolazione acustica producesse un effetto sulla macrostruttura del sonno, sono stati condotti dei t-test a campioni appaiati sul gruppo Stimolazione. Sono stati confrontati vari parametri del sonno, come l'efficienza in percentuale, il tempo trascorso in tempo NREM (N2+N3) in minuti, e la percentuale di tempo trascorso in N3, tra la notte di adattamento, in cui i soggetti non ricevevano stimolazioni e la notte sperimentale, in cui le ricevevano.

Il t-test a campioni appaiati condotto sul gruppo Stimolazione che ha confrontato l'efficienza del sonno tra la notte di adattamento e la notte sperimentale non ha mostrato alcuna differenza statisticamente significativa tra le due notti ($t_9 = -1.40$, $p = .096$, Cohen's $d = -0.58$). Tuttavia, si può notare come ci sia un aumento della percentuale di efficienza del sonno nella notte sperimentale, rispetto che nella notte di adattamento. Questa differenza tra le due notti poteva essere presente anche nel gruppo Controllo; perciò, è stata condotta un'ANOVA mista a due vie sull'efficienza percentuale con Gruppo come fattore tra i partecipanti (Stimolazione, Controllo) e con Notte come fattore entro i partecipanti (Adattamento, Sperimentale). L'ANOVA ha mostrato che l'effetto principale Gruppo non era statisticamente significativo ($F_{1,38} = 3.68$, $p = .062$, $\eta_G^2 = 0.088$), dimostrando che l'efficienza non variava tra i due gruppi. Nemmeno l'effetto interazione Gruppo x Notte è risultato statisticamente significativo ($F_{1,38} = 0.12$, $p = .725$, $\eta_G^2 = 0.003$), mostrando che l'efficienza nei gruppi non varia al variare della notte.

Il t-test a campioni appaiati condotto sul gruppo Stimolazione ha mostrato un aumento della percentuale di tempo trascorso in N3 durante la notte sperimentale rispetto che durante la notte di adattamento, sebbene questa differenza non risulti significativa ($t_9 = -1.39$, $p = .098$, Cohen's $d = -0.32$). Questa differenza non è visibile confrontando, attraverso un t-test a campioni appaiati, la percentuale di tempo trascorso in N3 tra la notte di adattamento e quella sperimentale nel gruppo Controllo ($t_9 = -0.20$, $p = .420$, Cohen's $d = -0.268$).

Il t-test a campioni appaiati eseguito sul gruppo Stimolazione, in cui si è confrontato il periodo di tempo trascorso in minuti di sonno NREM (N2+N3) tra la notte di adattamento e la notte sperimentale, non ha mostrato alcuna differenza statisticamente significativa tra le due notti ($t_9 = -1.46$, $p = .087$, Cohen's $d = -0.524$). Sebbene il risultato non sia significativo, si può notare come la quantità di sonno NREM trascorsa durante la notte sperimentale sia maggiore rispetto a quella trascorsa durante la notte di adattamento. Questa differenza non è visibile confrontando, con un t-test a campioni appaiati, il tempo trascorso in NREM nel gruppo Controllo tra la notte di adattamento e quella sperimentale ($t_9 = 0.12$, $p = .547$, Cohen's $d = 0.081$).

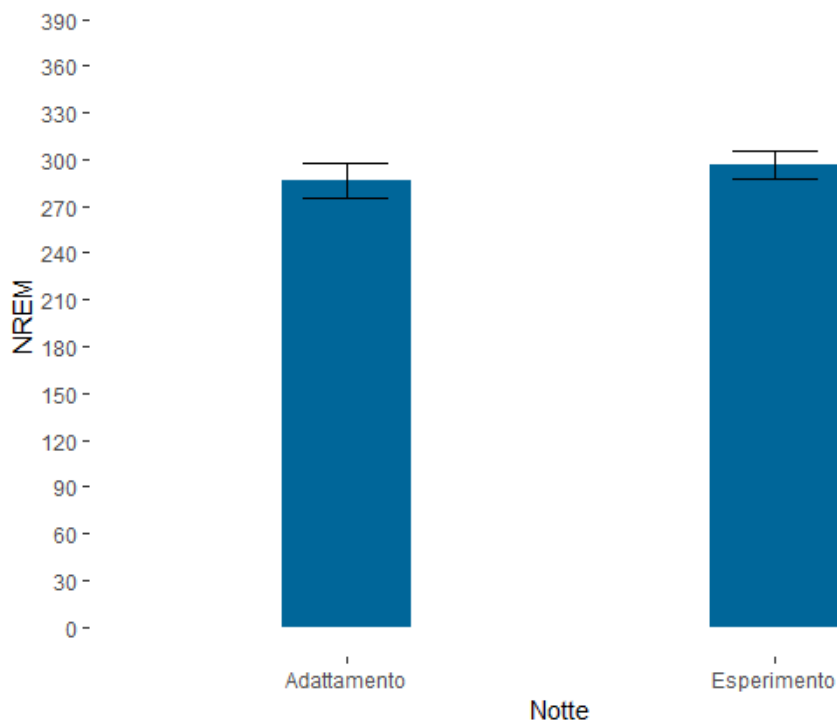


Figura 3.8 *Quantità di sonno NREM (minuti) della condizione Stimolazione tra le due notti (Adattamento ed Esperimento).*

3.3.6 Correlazioni esplorative

Nessuna delle correlazioni esplorative effettuate sui parametri del sonno e le prestazioni mnestiche è risultata statisticamente significativa (tutti i $p > .108$).

3.4 Discussione e Conclusioni

Il presente studio è stato condotto con lo scopo di indagare il ruolo della stimolazione acustica (CLAS) nel consolidamento della memoria dichiarativa, in particolare nell'apprendimento di associazioni tra non-parole e le rispettive traduzioni in italiano, e nell'apprendimento delle parole presentate in italiano. La registrazione dei segnali EEG e l'invio della stimolazione acustica sono avvenuti tramite il Dreem Headband, che ha permesso di investigare quest'effetto in un *setting* ecologico. Gli obiettivi principali dello studio erano tre: verificare se ci fosse un effetto della stimolazione acustica sul consolidamento della memoria dichiarativa, determinare se quest'effetto fosse visibile anche a lungo-termine, e investigare un possibile effetto della stimolazione acustica sulla macrostruttura del sonno.

A partire da questi obiettivi, è stato costruito un disegno *between subjects* in cui i soggetti potevano far parte del gruppo Stimolazione o del gruppo Controllo, in modo da valutare le differenze tra i due gruppi nella prestazione mnestica in un compito di associazione di parole e non-parole.

Basandosi sui risultati di precedenti ricerche presenti in letteratura, ci si aspettava di osservare una migliore prestazione di memoria associativa nel gruppo Stimolazione rispetto che nel gruppo Controllo, a parità di tempo trascorso tra l'apprendimento e il test (Leminen et al., 2017; Ngo et al., 2013). Dall'analisi dei dati invece, non emerge alcuna differenza statisticamente significativa tra i due gruppi. Tuttavia, si è potuto notare che al T1 il gruppo Controllo presenta una diminuzione della prestazione mnestica nel compito di associazioni rispetto al T0, al contrario del gruppo Stimolazione, che sembra rimanere più stabile. Per quanto riguarda la percentuale di parole ricordate in italiano, la prestazione mnestica tra T0 e T1 non sembra differire tra i due gruppi, rimanendo sempre stabile.

Sebbene i risultati non siano statisticamente significativi, essi risultano essere in linea con la letteratura già presente, dimostrando un effetto "protettivo" della stimolazione acustica nella prestazione di memoria associativa. L'effetto della stimolazione è spiegato dal fatto che il rumore rosa inviato durante l'*up-state* delle oscillazioni lente, fondamentali per il processo di consolidamento della memoria, aumenta la quantità di oscillazioni lente, promuovendo la generazione di *spindles* e di *ripples* durante il sonno. Come già visto, l'appaiamento di queste tre oscillazioni durante il sonno, sembra avere un ruolo importante nel distribuire le informazioni dall'ippocampo alla corteccia (Rasch & Born, 2013). Per questa ragione, il compito utilizzato è un compito di associazione di parole, che sembra essere sensibile a

cambiamenti nei processi riguardanti il consolidamento ippocampo-dipendente (Leminen et al., 2017).

La stimolazione invece, sembra non avere un effetto sulla memoria riguardante le parole in italiano, in quanto non si osserva nessuna differenza tra i due gruppi. Questo secondo risultato potrebbe essere spiegato dal fatto che il numero di parole italiane ricordate era già molto alto in partenza; perciò, la stimolazione non ha avuto alcun effetto in un compito che risulta essere più facile rispetto alla memoria di associazioni di parole.

Un aspetto interessante di questi risultati è che non si osserva un effetto del tempo nel cambiamento della prestazione, né per le associazioni di parole, né per le parole singole. Infatti, per nessuna delle due variabili si osserva un peggioramento significativo della prestazione, in nessuno dei due gruppi. Al contrario, osservando l'andamento dell'apprendimento, si nota una crescita lineare o, nel caso dei successivi test, si nota una prestazione stabile, e non un calo della prestazione come ci si potrebbe aspettare. Il calo della prestazione non è visibile nemmeno al T2, ovvero dopo circa 60 ore dall'apprendimento, anzi, in alcuni casi è visibile anche un miglioramento. Questo risultato è in contrasto con la curva dell'oblio descritta da Ebbinghaus (1885) e confermata successivamente da altri studi. Secondo Ebbinghaus, che osservò a lungo il decadimento mnestico nel tempo dopo l'apprendimento di sillabe senza senso, la maggior parte delle informazioni apprese veniva dimenticata durante la prima ora post-apprendimento, dopodiché il decadimento continuava per le 24-48 ore successive, fino a stabilizzarsi. Quindi, questo risultato indica che il compito produce un apprendimento molto robusto, probabilmente perché le diverse associazioni vengono ripetute più volte nel corso del compito, rendendo le informazioni apprese più resistenti al decadimento. Una spiegazione a questo fenomeno può essere data dal *testing effect*, teorizzato da Carrier e Pashler (1992). Secondo questo effetto, la prestazione in un compito di associazione di coppie di parole rimane simile quando testata dopo 5 minuti dall'apprendimento e dopo 24 ore. Questo avviene quando durante il compito di apprendimento si presenta per prima una parola e si chiede di richiamare quella ad essa associata, come avviene nel WPL, invece che studiare semplicemente le coppie di parole presentate contemporaneamente. Il richiamo della parola mentre si sta apprendendo sembra avere effetti benefici sulla ritenzione di memorie, rafforzando le parole richiamate e le loro associazioni corrispondenti. L'effetto può essere spiegato dal fatto che il richiamo di una parola comporta l'innescò dell'attività neurale coinvolta nel consolidamento. In questo modo, vengono anche create nuove reti implicate nel richiamo di quell'informazione, che saranno utilizzate nel richiamo successivo, ad esempio durante il test.

La seconda ipotesi, ovvero osservare se ci fosse un effetto della stimolazione a lungo-termine, più di 48 ore dopo la notte di stimolazione, era del tutto esplorativa. Infatti, non ci sono ancora studi in letteratura che abbiano risposto a questa domanda. Ci si aspettava una differenza di prestazione di memoria in T2 tra i soggetti nella condizione Stimolazione e quelli nella condizione Controllo. In particolare, si ipotizzava che i soggetti nella condizione Stimolazione avessero un minor decadimento mnestico rispetto ai soggetti nella condizione Controllo. Dall'analisi dei dati non si osserva un minor decadimento da T1 a T2 nel gruppo Stimolazione, anzi, il gruppo Stimolazione mostra un maggior decadimento nell'accuratezza delle associazioni rispetto al gruppo Controllo, sebbene questa differenza non sia statisticamente significativa. Per quanto riguarda la prestazione da T1 a T2 per l'accuratezza nelle parole, si osserva ancora una volta un aumento della prestazione del gruppo Controllo, anche se non statisticamente significativo, rispetto al gruppo Stimolazione che sembra diminuire leggermente la propria prestazione. Perciò, sembra che la stimolazione acustica, se presentata per una sola notte, non abbia alcun effetto a lungo-termine sulla prestazione mnestica.

In generale, sembra che l'effetto della stimolazione acustica sia più visibile nell'associazione di coppie di parole rispetto che nel ricordo di parole singole.

Nella terza ipotesi si voleva osservare se ci fosse un effetto della stimolazione acustica sulla macrostruttura del sonno. Basandosi sui risultati già presenti in letteratura, ci si attendeva un aumento della quantità di tempo trascorso in N3 e nel NREM in generale, tra la notte di adattamento e la notte sperimentale nei soggetti del gruppo Stimolazione. Infatti, ricerche precedenti mostrano, oltre ad un aumento degli *spindles* e dell'ampiezza delle oscillazioni lente, non osservabili con il Dreem Headband, anche un aumento della quantità delle oscillazioni lente nei soggetti che hanno ricevuto la stimolazione acustica (Leminen et al., 2017; Papalambros et al., 2017; Santostasi et al., 2015). Inoltre, basandosi su uno studio condotto da Zhou e colleghi (2012), in cui si riporta un aumento dell'efficienza del sonno nei soggetti che sono stati sottoposti alla stimolazione acustica, ci si aspettava di trovare una differenza nell'efficienza del sonno nel gruppo Stimolazione tra la prima e la seconda notte. In particolare, un aumento dell'efficienza del sonno nella notte sperimentale, rispetto che in quella di adattamento.

L'analisi dei dati ha mostrato un aumento dell'efficienza del sonno percentuale nel gruppo Stimolazione tra la notte di adattamento e la notte sperimentale, sebbene la differenza non risulti statisticamente significativa. Quindi, in generale, i soggetti sembrano aver dormito meglio. Tuttavia, questa differenza potrebbe dipendere dal fatto che i soggetti la prima notte abbiano dormito meno per via della fascia Dreem, e che la seconda notte, essendosi ormai abituati alla

fascia, abbiano dormito di più. Infatti, l'ANOVA condotta successivamente sull'efficienza, dimostra come non ci sia una differenza nell'efficienza tra i due gruppi al variare della notte.

Per quanto riguarda la quantità di tempo in percentuale trascorso in N3, si può notare un aumento durante la notte sperimentale nel gruppo Stimolazione. Sebbene il risultato non sia significativo, si può notare che lo stesso evento non si verifica nei soggetti nel gruppo Controllo.

È possibile osservare anche un aumento del tempo trascorso in NREM da parte del gruppo Stimolazione durante la notte sperimentale, sebbene il risultato non sia statisticamente significativo. Nemmeno qui, la differenza di sonno NREM tra le due notti è osservabile nel gruppo di controllo.

L'aumento di N3 e di sonno NREM nella notte in cui i soggetti ricevono la stimolazione acustica sembra essere in linea con le ricerche precedentemente effettuate, che mostrano un aumento della quantità di oscillazioni lente e di *spindles* e *ripples* associati, che si potrebbe riflettere in un aumento di tempo trascorso in N2 e N3.

In conclusione, lo studio è stato condotto con l'obiettivo di valutare l'effetto della CLAS sulla memoria dichiarativa, utilizzando un compito di associazione di parole e non-parole mai usato prima (WPL). Nonostante nessuna delle ipotesi della ricerca sia stata confermata, non sono nemmeno stati trovati risultati in contrasto con la letteratura già esistente. Inoltre, è stato interessante anche notare come il WPL fosse capace di creare un apprendimento molto resistente al decadimento, a differenza di altri compiti di memoria dichiarativa.

Un punto di forza di questa ricerca è sicuramente l'uso del Dreem Headband, uno strumento in grado di raccogliere e analizzare parametri appartenenti alla macrostruttura del sonno in modo sensibile e paragonabile ad una polisonnografia (Arnal et al., 2020). Grazie all'uso del DH è stato possibile effettuare l'esperimento in un ambiente ecologico, in quanto i partecipanti potevano indossarlo in totale autonomia direttamente a casa, senza l'aiuto di un esperto. Inoltre, sempre grazie al DH, è stato possibile effettuare prima una notte di adattamento, così che i partecipanti si abituassero a dormire con il DH, e che la notte sperimentale rappresentasse ancora di più il sonno tipico del soggetto.

Un ulteriore punto di forza dello studio è aver potuto registrare ed effettuare la stimolazione per un'intera notte di sonno, in modo da avere un maggior numero di stimolazioni e da analizzare i parametri di un sonno completo.

Allo stesso tempo però, lo svolgimento dell'esperimento esclusivamente in ambito domestico si è rivelato essere anche un limite. Innanzitutto, perché si aveva uno scarso controllo sui soggetti, dato che lo sperimentatore non si trovava nella stessa stanza dei partecipanti. Inoltre, sarebbe stato interessante condurre l'esperimento in laboratorio per poter effettuare la

polisonnografia ed analizzare anche la microstruttura del sonno, per poter studiare eventi elettroencefalografici come *spindles*, *ripples* e oscillazioni lente, legati al consolidamento della memoria. Sarebbe interessante studiare gli *spindles* sia in relazione al consolidamento della memoria, che all'effetto della CLAS su questi ultimi. Ci sono degli studi che hanno osservato come ci sia un aumento di *spindles* nel sonno successivo all'apprendimento di coppie di parole, e che questo aumento sia visibile soprattutto in soggetti che hanno mostrato una migliore prestazione al test successivo (Schabus et al., 2004). Inoltre, altri studi mostrano come la CLAS porti ad una migliore prestazione di memoria rispetto ai soggetti di controllo e ad un aumento di *spindles* (Leminen et al., 2017), tuttavia essi necessitano di ulteriori conferme, in quanto le ricerche condotte per osservare l'effetto della CLAS sulla memoria dichiarativa sono ancora relativamente poche.

Sicuramente un altro limite importante è la numerosità ristretta del campione, che probabilmente non ha permesso di evidenziare delle differenze significative. Sempre relativamente al campione, un altro limite è la sua eterogeneità, sia a livello demografico, in quanto c'è una differenza statisticamente significativa nel genere tra i due gruppi, che, per quanto riguarda la macrostruttura del sonno, dove il gruppo di stimolazione ha in partenza una minore quantità di sonno NREM e una maggiore quantità di sonno REM rispetto al gruppo di controllo.

In futuro, si potrebbe implementare uno studio come quello appena presentato, cercando di superare i limiti e apportare dei miglioramenti. Un primo punto sarebbe sicuramente aumentare la numerosità campionaria. Poi, si potrebbero diminuire le differenze interindividuali attuando un disegno di ricerca *within subjects*, in cui i partecipanti sarebbero sottoposti ad entrambe le condizioni. Per osservare meglio l'effetto della stimolazione sulla memoria dichiarativa, si potrebbero aumentare il numero di notti di stimolazione. Infatti, la maggior parte degli studi condotti finora con la CLAS ha effettuato minimo due notti di stimolazione (Leminen et al., 2017). Inoltre, come già detto, lo studio potrebbe essere replicato in laboratorio con l'uso della polisonnografia. Un altro possibile miglioramento potrebbe essere quello di studiare gli effetti a lungo-termine della stimolazione aumentando il numero di giorni che intercorrono tra T1 e T2, data la forte resistenza al decadimento di questo compito. In questo modo, si potrebbe osservare meglio la possibile differenza tra le due condizioni, poiché in questo esperimento non c'era un decadimento della prestazione dopo circa 60 ore dall'apprendimento.

Una prospettiva futura potrebbe essere anche quella di effettuare ripetute notti di stimolazione per valutare se ad un certo punto si possa verificare un adattamento alla

stimolazione, in cui quest'ultima non produca più un effetto benefico sulla prestazione mnestica.

Per concludere, la CLAS ad oggi è una tecnica ancora relativamente nuova ed inesplorata, ma che potrebbe aumentare la nostra conoscenza sulla relazione tra sonno e memoria. Perciò, si auspica che i futuri studi facciano luce sui molti aspetti ancora da comprendere.

BIBLIOGRAFIA

- Ackermann, S., & Rasch, B. (2014). Differential Effects of Non-REM and REM Sleep on Memory Consolidation? *Current Neurology and Neuroscience Reports*, 14(2), 430. <https://doi.org/10.1007/s11910-013-0430-8>
- Adamantidis, A. R., Gutierrez Herrera, C., & Gent, T. C. (2019). Oscillating circuitries in the sleeping brain. *Nature Reviews Neuroscience*, 20(12), 746–762. <https://doi.org/10.1038/s41583-019-0223-4>
- Åkerstedt, T., & Gillberg, M. (1990). Subjective and Objective Sleepiness in the Active Individual. *International Journal of Neuroscience*, 52(1–2), 29–37. <https://doi.org/10.3109/00207459008994241>
- Amzica, F., & Steriade, M. (2002). The functional significance of K-complexes. *Sleep Medicine Reviews*, 6(2), 139–149. <https://doi.org/10.1053/smr.2001.0181>
- Antony, J. W., Gobel, E. W., O’Hare, J. K., Reber, P. J., & Paller, K. A. (2012). Cued memory reactivation during sleep influences skill learning. *Nature Neuroscience*, 15(8), 1114–1116. <https://doi.org/10.1038/nn.3152>
- Antony, J. W., Piloto, L., Wang, M., Pacheco, P., Norman, K. A., & Paller, K. A. (2018). Sleep Spindle Refractoriness Segregates Periods of Memory Reactivation. *Current Biology*, 28(11), 1736–1743.e4. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2018.04.020>
- Arnal, P. J., Thorey, V., Debellemanni, E., Ballard, M. E., Bou Hernandez, A., Guillot, A., Jourde, H., Harris, M., Guillard, M., Van Beers, P., Chennaoui, M., & Sauvet, F. (2020). The Dreem Headband compared to polysomnography for electroencephalographic signal acquisition and sleep staging. *Sleep*, 43(11), zsa097. <https://doi.org/10.1093/sleep/zsa097>
- Barakat, M., Doyon, J., Debas, K., Vandewalle, G., Morin, A., Poirier, G., Martin, N., Lafortune, M., Karni, A., Ungerleider, L. G., Benali, H., & Carrier, J. (2011). Fast and slow spindle involvement in the consolidation of a new motor sequence. *Behavioural Brain Research*, 217(1), 117–121. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2010.10.019>
- Bergmann, T. O., Mölle, M., Diedrichs, J., Born, J., & Siebner, H. R. (2012). Sleep spindle-related reactivation of category-specific cortical regions after learning face-scene associations. *NeuroImage*, 59(3), 2733–2742. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2011.10.036>
- Bertini, M., & Torre, A. (1973). REM Sleep and Memory Consolidation in Humans. In W. P. Koella & P. Levin (A c. Di), *European Congress on Sleep Research* (pp. 453–457). S. Karger AG. <https://doi.org/10.1159/000428111>
- Brodts, S., Inostroza, M., Niethard, N., & Born, J. (2023). Sleep—A brain-state serving systems memory consolidation. *Neuron*, 111(7), 1050–1075. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2023.03.005>

- Buyse, D. J., Reynolds, C. F., Monk, T. H., Berman, S. R., & Kupfer, D. J. (1989). The Pittsburgh sleep quality index: A new instrument for psychiatric practice and research. *Psychiatry Research*, *28*(2), 193–213. [https://doi.org/10.1016/0165-1781\(89\)90047-4](https://doi.org/10.1016/0165-1781(89)90047-4)
- Carrier, M., & Pashler, H. (1992). The influence of retrieval on retention. *Memory & Cognition*, *20*(6), 633–642. <https://doi.org/10.3758/BF03202713>
- Cellini, N., & Mednick, S. C. (2019). Stimulating the sleeping brain: Current approaches to modulating memory-related sleep physiology. *Journal of Neuroscience Methods*, *316*, 125–136. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2018.11.011>
- Chokroverty, S. (2010). Overview of sleep & sleep disorders. *Indian Journal of Medical Research*, *131*(2), 126–140.
- Clemens, Z., Fabó, D., & Halász, P. (2006). Twenty-four hours retention of visuospatial memory correlates with the number of parietal sleep spindles. *Neuroscience Letters*, *403*(1–2), 52–56. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2006.04.035>
- Cox, R., Hofman, W. F., & Talamini, L. M. (2012). Involvement of spindles in memory consolidation is slow wave sleep-specific. *Learning & Memory*, *19*(7), 264–267. <https://doi.org/10.1101/lm.026252.112>
- de Vivo, L., Bellesi, M., Marshall, W., Bushong, E. A., Ellisman, M. H., Tononi, G., & Cirelli, C. (2017). Ultrastructural evidence for synaptic scaling across the wake/sleep cycle. *Science*, *355*(6324), 507–510. <https://doi.org/10.1126/science.aah5982>
- Debellemanniere, E., Chambon, S., Pinaud, C., Thorey, V., Dehaene, D., Léger, D., Chennaoui, M., Arnal, P. J., & Galtier, M. N. (2018). Performance of an Ambulatory Dry-EEG Device for Auditory Closed-Loop Stimulation of Sleep Slow Oscillations in the Home Environment. *Frontiers in Human Neuroscience*, *12*, 88. <https://doi.org/10.3389/fnhum.2018.00088>
- Diba, K., & Buzsáki, G. (2007). Forward and reverse hippocampal place-cell sequences during ripples. *Nature Neuroscience*, *10*(10), 1241–1242. <https://doi.org/10.1038/nn1961>
- Diekelmann, S., & Born, J. (2010). The memory function of sleep. *Nature Reviews Neuroscience*, *11*(2), 114–126. <https://doi.org/10.1038/nrn2762>
- Dudai, Y. (2004). The Neurobiology of Consolidations, Or, How Stable is the Engram? *Annual Review of Psychology*, *55*(1), 51–86. <https://doi.org/10.1146/annurev.psych.55.090902.142050>
- Ebbinghaus, H. (2013). Memory: A Contribution to Experimental Psychology. *Annals of Neurosciences*, *20*(4). <https://doi.org/10.5214/ans.0972.7531.200408>
- Eichenbaum, H. (2000). A cortical–hippocampal system for declarative memory. *Nature Reviews Neuroscience*, *1*(1), 41–50. <https://doi.org/10.1038/35036213>
- Ellenbogen, J. M., Hulbert, J. C., Jiang, Y., & Stickgold, R. (2009). The Sleeping Brain’s Influence on Verbal Memory: Boosting Resistance to Interference. *PLoS ONE*, *4*(1), e4117. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0004117>

- Fischer, S., & Born, J. (2009). Anticipated reward enhances offline learning during sleep. *Journal of Experimental Psychology: Learning, Memory, and Cognition*, *35*(6), 1586–1593. <https://doi.org/10.1037/a0017256>
- Fischer, S., Hallschmid, M., Elsner, A. L., & Born, J. (2002). Sleep forms memory for finger skills. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *99*(18), 11987–11991. <https://doi.org/10.1073/pnas.182178199>
- Fogel, S. M., & Smith, C. T. (2006). Learning-dependent changes in sleep spindles and Stage 2 sleep. *Journal of Sleep Research*, *15*(3), 250–255. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2869.2006.00522.x>
- Gais, S., Lucas, B., & Born, J. (2006). Sleep after learning aids memory recall. *Learning & Memory*, *13*(3), 259–262. <https://doi.org/10.1101/lm.132106>
- Gais, S., Mölle, M., Helms, K., & Born, J. (2002). Learning-Dependent Increases in Sleep Spindle Density. *The Journal of Neuroscience*, *22*(15), 6830–6834. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.22-15-06830.2002>
- Gais, S., Plihal, W., Wagner, U., & Born, J. (2000). Early sleep triggers memory for early visual discrimination skills. *Nature Neuroscience*, *3*(12), 1335–1339. <https://doi.org/10.1038/81881>
- Gazzaniga, M., Mangun, G. R., & Ivry, R. B. (2019). Memory. In *Cognitive Neuroscience: The Biology of the Mind* (Fifth International Student, pp. 379–425). W. W. Norton & Company.
- Genzel, L., Kroes, M. C. W., Dresler, M., & Battaglia, F. P. (2014). Light sleep versus slow wave sleep in memory consolidation: A question of global versus local processes? *Trends in Neurosciences*, *37*(1), 10–19. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2013.10.002>
- Giuditta, A., Ambrosini, M. V., Montagnese, P., Mandile, P., Cotugno, M., Zucconi, G. G., & Vescia, S. (1995). The sequential hypothesis of the function of sleep. *Behavioural Brain Research*, *69*(1–2), 157–166. [https://doi.org/10.1016/0166-4328\(95\)00012-I](https://doi.org/10.1016/0166-4328(95)00012-I)
- Goel, N., Kim, H., & Lao, R. P. (2005). An Olfactory Stimulus Modifies Nighttime Sleep in Young Men and Women. *Chronobiology International*, *22*(5), 889–904. <https://doi.org/10.1080/07420520500263276>
- González-Rueda, A., Pedrosa, V., Feord, R. C., Clopath, C., & Paulsen, O. (2018). Activity-Dependent Downscaling of Subthreshold Synaptic Inputs during Slow-Wave-Sleep-like Activity In Vivo. *Neuron*, *97*(6), 1244–1252.e5. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.01.047>
- Harding, K., & Feldman, M. (2008). Sleep Disorders and Sleep Deprivation: An Unmet Public Health Problem. *Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry*, *47*(4), 473–474. <https://doi.org/10.1097/01.CHI.0000270812.55636.3b>
- Hauner, K. K., Howard, J. D., Zelano, C., & Gottfried, J. A. (2013). Stimulus-specific enhancement of fear extinction during slow-wave sleep. *Nature Neuroscience*, *16*(11), 1553–1555. <https://doi.org/10.1038/nn.3527>

- Helfrich, R. F., Mander, B. A., Jagust, W. J., Knight, R. T., & Walker, M. P. (2018). Old Brains Come Uncoupled in Sleep: Slow Wave-Spindle Synchrony, Brain Atrophy, and Forgetting. *Neuron*, *97*(1), 221-230.e4. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2017.11.020>
- Jegou, A., Schabus, M., Gosseries, O., Dahmen, B., Albouy, G., Desseilles, M., Sterpenich, V., Phillips, C., Maquet, P., Grova, C., & Dang-Vu, T. T. (2019). Cortical reactivations during sleep spindles following declarative learning. *NeuroImage*, *195*, 104–112. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2019.03.051>
- Jenkins, J. G., & Dallenbach, K. M. (1924). Obliviscence during Sleep and Waking. *The American Journal of Psychology*, *35*(4), 605. <https://doi.org/10.2307/1414040>
- Ji, D., & Wilson, M. A. (2007). Coordinated memory replay in the visual cortex and hippocampus during sleep. *Nature Neuroscience*, *10*(1), 100–107. <https://doi.org/10.1038/nn1825>
- Johns, M. W. (1991). A New Method for Measuring Daytime Sleepiness: The Epworth Sleepiness Scale. *Sleep*, *14*(6), 540–545. <https://doi.org/10.1093/sleep/14.6.540>
- Kandel, E. R. (2001). The Molecular Biology of Memory Storage: A Dialogue Between Genes and Synapses. *Science*, *294*(5544), 1030–1038. <https://doi.org/10.1126/science.1067020>
- Klinzing, J. G., Niethard, N., & Born, J. (2019). Mechanisms of systems memory consolidation during sleep. *Nature Neuroscience*, *22*(10), 1598–1610. <https://doi.org/10.1038/s41593-019-0467-3>
- Lahl, O., Wispel, C., Willigens, B., & Pietrowsky, R. (2008). An ultra short episode of sleep is sufficient to promote declarative memory performance. *Journal of Sleep Research*, *17*(1), 3–10. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2869.2008.00622.x>
- Latchoumane, C.-F. V., Ngo, H.-V. V., Born, J., & Shin, H.-S. (2017). Thalamic Spindles Promote Memory Formation during Sleep through Triple Phase-Locking of Cortical, Thalamic, and Hippocampal Rhythms. *Neuron*, *95*(2), 424-435.e6. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2017.06.025>
- Leminen, M. M., Virkkala, J., Saure, E., Pajananen, T., Zee, P. C., Santostasi, G., Hublin, C., Müller, K., Porkka-Heiskanen, T., Huutilainen, M., & Paunio, T. (2017). Enhanced Memory Consolidation Via Automatic Sound Stimulation During Non-REM Sleep. *Sleep*, *40*(3). <https://doi.org/10.1093/sleep/zsx003>
- Loh, S., Lamond, N., Dorrian, J., Roach, G., & Dawson, D. (2004). The validity of psychomotor vigilance tasks of less than 10-minute duration. *Behavior Research Methods, Instruments, & Computers*, *36*(2), 339–346. <https://doi.org/10.3758/BF03195580>
- Lovibond, P. F., & Lovibond, S. H. (1995). The structure of negative emotional states: Comparison of the Depression Anxiety Stress Scales (DASS) with the Beck Depression and Anxiety Inventories. *Behaviour Research and Therapy*, *33*(3), 335–343.

[https://doi.org/10.1016/0005-7967\(94\)00075-U](https://doi.org/10.1016/0005-7967(94)00075-U)

- Mander, B. A., Rao, V., Lu, B., Saletin, J. M., Lindquist, J. R., Ancoli-Israel, S., Jagust, W., & Walker, M. P. (2013). Prefrontal atrophy, disrupted NREM slow waves and impaired hippocampal-dependent memory in aging. *Nature Neuroscience*, *16*(3), 357–364. <https://doi.org/10.1038/nn.3324>
- Marshall, L., Helgadóttir, H., Mölle, M., & Born, J. (2006). Boosting slow oscillations during sleep potentiates memory. *Nature*, *444*(7119), 610–613. <https://doi.org/10.1038/nature05278>
- Marshall, L., Mölle, M., Hallschmid, M., & Born, J. (2004). Transcranial Direct Current Stimulation during Sleep Improves Declarative Memory. *The Journal of Neuroscience*, *24*(44), 9985–9992. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2725-04.2004>
- Mednick, S., Nakayama, K., & Stickgold, R. (2003). Sleep-dependent learning: A nap is as good as a night. *Nature Neuroscience*, *6*(7), 697–698. <https://doi.org/10.1038/nm1078>
- Möller, M., Eschenko, O., Gais, S., Sara, S. J., & Born, J. (2009). The influence of learning on sleep slow oscillations and associated spindles and ripples in humans and rats. *European Journal of Neuroscience*, *29*(5), 1071–1081. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2009.06654.x>
- Morin Amélie, Doyon Julien , Dostie Valérie, Marc Barakat, PhD, Abdallah Hadj Tahar, PhD, Maria Korman, PhD, Habib Benali, PhD, Avi Karni, MD, PhD, Leslie G. Ungerleider, PhD, Julie Carrier, PhD. (2008). Motor Sequence Learning Increases Sleep Spindles and Fast Frequencies in Post-Training Sleep. *Sleep*. <https://doi.org/10.5665/sleep/31.8.1149>
- Morin, C. M. (1993). *Insomnia: Psychological assessment and management* (Guilford press).
- Natale, V., Esposito, M. J., Martoni, M., & Fabbri, M. (2006). Validity of the reduced version of the Morningness-Eveningness Questionnaire. *Sleep and Biological Rhythms*, *4*(1), 72–74. <https://doi.org/10.1111/j.1479-8425.2006.00192.x>
- Ngo, H.-V. V., Claussen, J. C., Born, J., & Mölle, M. (2013). Induction of slow oscillations by rhythmic acoustic stimulation: *Acoustic stimulation during sleep*. *Journal of Sleep Research*, *22*(1), 22–31. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2869.2012.01039.x>
- Ngo, H.-V. V., Martinetz, T., Born, J., & Mölle, M. (2013). Auditory Closed-Loop Stimulation of the Sleep Slow Oscillation Enhances Memory. *Neuron*, *78*(3), 545–553. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2013.03.006>
- Ngo, H.-V. V., Miedema, A., Faude, I., Martinetz, T., Mölle, M., & Born, J. (2015). Driving Sleep Slow Oscillations by Auditory Closed-Loop Stimulation—A Self-Limiting Process. *The Journal of Neuroscience*, *35*(17), 6630–6638. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3133-14.2015>
- Nishida, M., & Walker, M. P. (2007). Daytime Naps, Motor Memory Consolidation and Regionally Specific Sleep Spindles. *PLoS ONE*, *2*(4), e341.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0000341>

- Ong, J. L., Lo, J. C., Chee, N. I. Y. N., Santostasi, G., Paller, K. A., Zee, P. C., & Chee, M. W. L. (2016). Effects of phase-locked acoustic stimulation during a nap on EEG spectra and declarative memory consolidation. *Sleep Medicine*, *20*, 88–97. <https://doi.org/10.1016/j.sleep.2015.10.016>
- Papalambros, N. A., Santostasi, G., Malkani, R. G., Braun, R., Weintraub, S., Paller, K. A., & Zee, P. C. (2017). Acoustic Enhancement of Sleep Slow Oscillations and Concomitant Memory Improvement in Older Adults. *Frontiers in Human Neuroscience*, *11*. <https://doi.org/10.3389/fnhum.2017.00109>
- Peirce, J., Gray, J. R., Simpson, S., MacAskill, M., Höchenberger, R., Sogo, H., Kastman, E., & Lindeløv, J. K. (2019). PsychoPy2: Experiments in behavior made easy. *Behavior Research Methods*, *51*(1), 195–203. <https://doi.org/10.3758/s13428-018-01193-y>
- Piosczyk, H., Holz, J., Feige, B., Spiegelhalder, K., Weber, F., Landmann, N., Kuhn, M., Frase, L., Riemann, D., Voderholzer, U., & Nissen, C. (2013). The effect of sleep-specific brain activity versus reduced stimulus interference on declarative memory consolidation. *Journal of Sleep Research*, *22*(4), 406–413. <https://doi.org/10.1111/jsr.12033>
- Plihal, W., & Born, J. (1997). Effects of Early and Late Nocturnal Sleep on Declarative and Procedural Memory. *Journal of Cognitive Neuroscience*, *9*(4), 534–547. <https://doi.org/10.1162/jocn.1997.9.4.534>
- Rasch, B., & Born, J. (2013). About Sleep's Role in Memory. *Physiological Reviews*, *93*(2), 681–766. <https://doi.org/10.1152/physrev.00032.2012>
- Rasch, B., Büchel, C., Gais, S., & Born, J. (2007). Odor Cues During Slow-Wave Sleep Prompt Declarative Memory Consolidation. *Science*, *315*(5817), 1426–1429. <https://doi.org/10.1126/science.1138581>
- Rihm, J. S., Diekelmann, S., Born, J., & Rasch, B. (2014). Reactivating Memories during Sleep by Odors: Odor Specificity and Associated Changes in Sleep Oscillations. *Journal of Cognitive Neuroscience*, *26*(8), 1806–1818. https://doi.org/10.1162/jocn_a_00579
- RStudio Team. (2015). *RStudio: Integrated Development Environment for R*. Boston, MA. Retrieved from <http://www.rstudio.com/>
- Ruch, S., Markes, O., Duss, S. B., Oppliger, D., Reber, T. P., Koenig, T., Mathis, J., Roth, C., & Henke, K. (2012). Sleep stage II contributes to the consolidation of declarative memories. *Neuropsychologia*, *50*(10), 2389–2396. <https://doi.org/10.1016/j.neuropsychologia.2012.06.008>
- Rundo, J. V., & Downey, R. (2019). Polysomnography. In *Handbook of Clinical Neurology* (Vol. 160, pp. 381–392). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64032-1.00025-4>

- Santostasi, G., Malkani, R., Riedner, B., Bellesi, M., Tononi, G., Paller, K. A., & Zee, P. C. (2016). Phase-locked loop for precisely timed acoustic stimulation during sleep. *Journal of Neuroscience Methods*, *259*, 101–114.
- Schabus, M., Gruber, G., Parapatics, S., Sauter, C., Klösch, G., Anderer, P., Klimesch, W., Saletu, B., & Zeitlhofer, J. (2004). Sleep Spindles and Their Significance for Declarative Memory Consolidation. *Sleep*, *27*(8), 1479–1485. <https://doi.org/10.1093/sleep/27.7.1479>
- Schönauer, M., Geisler, T., & Gais, S. (2014). Strengthening Procedural Memories by Reactivation in Sleep. *Journal of Cognitive Neuroscience*, *26*(1), 143–153. https://doi.org/10.1162/jocn_a_00471
- Schouten, D. I., Pereira, S. I. R., Tops, M., & Louzada, F. M. (2017). State of the art on targeted memory reactivation: Sleep your way to enhanced cognition. *Sleep Medicine Reviews*, *32*, 123–131. <https://doi.org/10.1016/j.smrv.2016.04.002>
- Schreiner, T., & Rasch, B. (2015). Boosting Vocabulary Learning by Verbal Cueing During Sleep. *Cerebral Cortex*, *25*(11), 4169–4179. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhu139>
- Siegel, J. M. (2003). Why We Sleep. *Scientific American*, *289*(5), 92–97. <https://doi.org/10.1038/scientificamerican1103-92>
- Squire, L. R. (2004). Memory systems of the brain: A brief history and current perspective. *Neurobiology of Learning and Memory*, *82*(3), 171–177. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2004.06.005>
- Squire, L. R., Genzel, L., Wixted, J. T., & Morris, R. G. (2015). Memory Consolidation. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, *7*(8), a021766. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a021766>
- Stickgold, R., James, L., & Hobson, J. A. (2000). Visual discrimination learning requires sleep after training. *Nature Neuroscience*, *3*(12), 1237–1238. <https://doi.org/10.1038/81756>
- Talamini, L. M., Nieuwenhuis, I. L. C., Takashima, A., & Jensen, O. (2008). Sleep directly following learning benefits consolidation of spatial associative memory. *Learning & Memory*, *15*(4), 233–237. <https://doi.org/10.1101/lm.771608>
- Tamminen, J., Payne, J. D., Stickgold, R., Wamsley, E. J., & Gaskell, M. G. (2010). Sleep Spindle Activity is Associated with the Integration of New Memories and Existing Knowledge. *The Journal of Neuroscience*, *30*(43), 14356–14360. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3028-10.2010>
- Tilley, A. J., & Empson, J. A. C. (1978). REM sleep and memory consolidation. *Biological Psychology*, *6*(4), 293–300. [https://doi.org/10.1016/0301-0511\(78\)90031-5](https://doi.org/10.1016/0301-0511(78)90031-5)
- Tononi, G., & Cirelli, C. (2006). Sleep function and synaptic homeostasis. *Sleep Medicine Reviews*, *10*(1), 49–62. <https://doi.org/10.1016/j.smrv.2005.05.002>
- Troyer, A. K., & Rich, J. B. (2002). Psychometric Properties of a New Metamemory Questionnaire for Older Adults. *The Journals of Gerontology Series B: Psychological Sciences and Social Sciences*, *57*(1), P19–P27. <https://doi.org/10.1093/geronb/57.1.P19>

- Tucker, M., Hirota, Y., Wamsley, E., Lau, H., Chaklader, A., & Fishbein, W. (2006). A daytime nap containing solely non-REM sleep enhances declarative but not procedural memory. *Neurobiology of Learning and Memory*, 86(2), 241–247. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2006.03.005>
- Vaughn, B. V., & Giallanza, P. (2008). Technical Review of Polysomnography. *Chest*, 134(6), 1310–1319. <https://doi.org/10.1378/chest.08-0812>
- Vitaterna, M. H., Takahashi, J. S., & Turek, F. W. (2001). Overview of circadian rhythms. *Alcohol research & health*, 25(2), 85.
- Wagner, U., Gais, S., & Born, J. (2001). Emotional Memory Formation Is Enhanced across Sleep Intervals with High Amounts of Rapid Eye Movement Sleep. *Learning & Memory*, 8(2), 112–119. <https://doi.org/10.1101/lm.36801>
- Walker, M. P., Brakefield, T., Seidman, J., Morgan, A., Hobson, J. A., & Stickgold, R. (2003). Sleep and the Time Course of Motor Skill Learning. *Learning & Memory*, 10(4), 275–284. <https://doi.org/10.1101/lm.58503>
- Weigenand, A., Mölle, M., Werner, F., Martinetz, T., & Marshall, L. (2016). Timing matters: Open-loop stimulation does not improve overnight consolidation of word pairs in humans. *European Journal of Neuroscience*, 44(6), 2357–2368. <https://doi.org/10.1111/ejn.13334>
- Wilhelm, I., Diekelmann, S., Molzow, I., Ayoub, A., Mölle, M., & Born, J. (2011). Sleep Selectively Enhances Memory Expected to Be of Future Relevance. *The Journal of Neuroscience*, 31(5), 1563–1569. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3575-10.2011>
- Yaroush, R., Sullivan, M. J., & Ekstrand, B. R. (1971). Effect of sleep on memory: II. Differential effect of the first and second half of the night. *Journal of Experimental Psychology*, 88(3), 361–366. <https://doi.org/10.1037/h0030914>
- Yasuda, T., Yasuda, K., Brown, R. A., & Krueger, J. M. (2005). State-dependent effects of light-dark cycle on somatosensory and visual cortex EEG in rats. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 289(4), R1083–R1089. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00112.2005>
- Zhou, J., Liu, D., Li, X., Ma, J., Zhang, J., & Fang, J. (2012). Pink noise: Effect on complexity synchronization of brain activity and sleep consolidation. *Journal of Theoretical Biology*, 306, 68–72. <https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2012.04.006>