



UNIVERSITÀ DI PADOVA

Dipartimento di Psicologia Generale

Corso di laurea in “Neuroscienze e Riabilitazione Neuropsicologica”

Tesi di laurea Magistrale

**Ansia e Conflitto Cognitivo: Correlati Elettroencefalografici e
Comportamentali in un Affective Flanker Task Prima e Dopo Stimolazione
Elettrica Transcranica con tACS**

**Anxiety and Cognitive Conflict: Electroencephalographic and Behavioral
Correlates in an Affective Flanker Task Before and After Transcranial
Alternating Current Stimulation (tACS)**

Relatrice/Relatore

Prof.ssa/Prof. Mario Liotti

Dipartimento di Psicologia dello Sviluppo e della Socializzazione
(DPSS)

**Laureanda/o: Valentina Marini
Matricola: 2091972**

Anno Accademico 2025/2026

Abstract

L'ansia è associata ad alterazioni dei processi attentivi e di controllo cognitivo, specialmente in presenza di stimoli emotivamente salienti. Il presente studio indaga i correlati comportamentali e neurofisiologici dell'ansia in soggetti subclinici e i possibili effetti di una neuromodulazione con una stimolazione transcranica a corrente alternata (tACS) in un compito di Affective Flanker Task (AFT) e una registrazione elettroencefalografica (EEG). I risultati hanno evidenziato differenze significative tra i diversi gruppi nell'accuratezza e nell'efficienza di performance, oltre a riportare una modulazione delle componenti ERP N450 e P2a associate a livelli di ansia. Inoltre, la stimolazione tACS attiva ha prodotto una riduzione significativa dell'ansia di stato e una modulazione della componente P2a. Nel complesso i risultati suggeriscono che l'ansia influenzi i processi di controllo cognitivo e di elaborazione emotiva, evidenziando il potenziale della stimolazione tACS come strumento di neuromodulazione non invasivo.

Indice

Introduzione.....	5
Capitolo 1- Fondamenti Teorici e Neurocognitivi Dell’Ansia.....	7
1.1 Neurobiologia e Fisiologia dell’Ansia.....	7
1.2 Modelli Teorici sull’Ansia.....	9
1.3 Distinzione tra Ansia Specifica e Ansia Generale.....	10
1.4 Bias Attentivi dell’Ansia.....	11
1.5 Conflitto Cognitivo ed Interferenze da Distrattori Emozionali.....	13
Capitolo 2- Elettroencefalogramma (EEG).....	16
2.1 Event-Related Potentials (ERPs) in Stimoli Emozionali	17
2.1.1 Early Anterior Positivity (EAP).....	19
2.1.2 N450.....	20
2.2 Artefatti e Limiti Metodologici Dell’EEG	21
Capitolo 3- Stimolazione Transcranica a Corrente Alternata (tACS).....	23
3.1 Meccanismi d’Azione nelle Oscillazioni Neurali.....	24
3.2 Evidenze Empiriche nell’uso della tACS.....	25
3.3 Applicazione delle tACS e i Suoi Limiti.....	27
Capitolo 4- Strumenti Psicometrici Per La Valutazione Dell’Ansia.....	30
4.1 State-Trait Anxiety Inventory (STAI-Y).....	30
4.2 Anxiety Sensitivity Index- 3 (ASI-3).....	31
4.3 Beck Depression Inventory- Secondary Edition (BDI-II)	32
Capitolo 5- Affective Flanker Task (AFT).....	35
5.1 Flanker Task.....	35
5.2 Affective Flanker Task.....	36

Capitolo 6- Metodologia.....	38
6.1 Obiettivi e ipotesi di ricerca.....	38
6.2 Partecipanti e Sessioni.....	39
6.3 Disegno dello Studio Sperimentale.....	42
6.4 Strumenti di Misura.....	44
6.4.1 Dettagli Questionari di misura: STAI-Y, ASI-3, BDI-II.....	44
6.4.2 Descrizione del Sistema di Acquisizione EEG.....	45
6.4.3 Descrizione Stimolazione tACS.....	47
6.4.4 Descrizione dell'AFT.....	48
Capitolo 7 – Risultati.....	50
7.1 Analisi Comportamentali.....	50
7.2 Analisi ERP alla Baseline.....	53
7.3 Analisi Pre e Post Stimolazione con la tACS.....	56
7.4 Analisi Pre e Post Stimolazione tACS sui Livelli di Ansia di Stato (STAI-S).....	59
Capitolo 8 – Discussione.....	60
8.1 Limiti e Studi Futuri.....	66
Bibliografia.....	71

Introduzione

L'obiettivo principale dello studio è quello di indagare la relazione tra livelli di ansia e i correlati comportamentali e neurofisiologici nell'elaborazione del conflitto cognitivo, dopo una stimolazione elettrica a corrente alternata (tACS) in un task emotivo, con particolare attenzione ai bias attentivi verso stimoli minacciosi.

L'ansia può essere definita come stato emotivo caratterizzato da agitazione, preoccupazione e inquietudine, che emerge come risposta all'anticipazione di una minaccia presente o futura (Barlow, 2002; Beck et al., 1985). Rappresenta una risposta emotiva normale e adattiva, che consente all'individuo di affrontare in maniera efficace situazioni di stress. Questa si definisce patologica quando diviene cronica ed eccessiva, causando compromissioni funzionali e difficoltà nella vita quotidiana. Particolarmente, si può identificare un disturbo patologico d'ansia quando sintomi fisiologici quali, tachicardia e sudorazione, e sintomi cognitivi ed emotivi come, pensieri catastrofici, paura e terrore, appaiono senza la presenza di una minaccia reale. La suscettibilità all'ansia ha una variabilità interindividuale che può portare a reazioni fisiche e psicologiche soggettive, che possono influenzare le risposte psicologiche e fisiologiche in situazioni stressanti (Barlow 2002; Spielberger 1983; Craske et al., 2016).

Questo studio è stato condotto in un periodo di cinque giorni su un campione di adulti sani divisi in tre gruppi, *high moderate* e *low anxiety*. Viene utilizzato un compito di interferenza emotiva, l'*Affective Flanker Task (AFT)* diviso in blocchi, con lo scopo di introdurre distrattori emozionali che potrebbero interferire con l'elaborazione dello stimolo bersaglio causando un aumento del conflitto cognitivo. Nel mentre, viene fatta una registrazione elettroencefalografica (EEG) per indagare possibili elicitazioni di Potenziali-Evento Relati (ERPs), prodotti dall'AFT. Nei seguenti giorni i partecipanti sono sottoposti ad una

stimolazione transcranica a corrente alternata (tACS), per modificare configurazioni di attivazione neurale associati all'ansia.

La presente tesi si concentrerà su due livelli di analisi. Il primo riguarda il livello comportamentale, valutato attraverso test psicometrici, e *l'attention bias* misurato in termini di accuratezza e tempi di reazione nell'AFT. Il secondo livello riguarda l'attività neuronale, con l'obiettivo di esaminare i processi cerebrali coinvolti nell'elaborazione degli stimoli elettrofisiologici ed emotivi. Dunque, questo elaborato cercherà di analizzare come l'ansia sia percepita sia a livello comportamentale sia a livello di elaborazione neuronale, con lo scopo di alleviare la sintomatologia dopo una neuromodulazione.

Le ipotesi di ricerca riguardano l'influenza dell'ansia di tratto sui processi di controllo cognitivo e i correlati neurofisiologici dell'elaborazione di stimoli salienti, nonché i possibili effetti della stimolazione transcranica a corrente alternata (tACS) nel neuromodulare tali processi. In particolare, si ipotizza che livelli più elevati di ansia si associno a differenze nella performance comportamentale e nelle componenti ERP. Si prevede che dopo la stimolazione tACS attiva ci sia una riduzione della sintomatologia ansiosa e dei correlati neurofisiologici.

I risultati hanno supportato parzialmente le ipotesi formulate. Le analisi comportamentali hanno evidenziato differenze significative tra i gruppi nell'accuratezza e nella performance al task. Le analisi ERP hanno mostrato una modulazione delle componenti associate ai livelli di ansia. La stimolazione tACS ha determinato una riduzione significativa dell'ansia di stato e una neuromodulazione della componente P2a e non nella componente N450.

Capitolo 1- Fondamenti Teorici e Neurocognitivi Dell'Ansia

1.1 Neurobiologia e Fisiologia dell'Ansia

L'ansia è una reazione emotiva complessa, che coinvolge ed influenza diversi sistemi neurobiologici, endocrini e fisiologici (Etkin & Wager, 2007). Numerosi studi identificano differenti circuiti neurali, come mediatori responsabili per il disturbo d'ansia generalizzato (GAD), non sempre arrivando ad un consenso unico. Questi autori evidenziano un coinvolgimento di una rete di regioni cerebrali: l'amigdala, ipotalamo, la sostanza grigia periacqueduttale (PAG), l'ippocampo, la corteccia prefrontale (PFC) e la corteccia cingolata anteriore dorsale (dACC) (Etkin, 2010; Shin & Liberzon, 2010; Sylvester et al., 2012).

Nello studio di Akiki et al. (2025), gli autori dividono l'elaborazione della minaccia ansiogena in due vie: via diretta e via indiretta. Nella via diretta, utilizzata come risposta immediata al pericolo, l'amigdala rileva le minacce iniziali e invia l'input di risposta all'ipotalamo, che attiva e aumenta l'arousal delle risposte fisiologiche mediate dall'asse ipotalamo-ipofisi-surrene (HPA), attivando il sistema nervoso simpatico.

Quando nelle aree limbiche, specialmente nell'amigdala, informazioni di minaccia vengono elaborate, la sostanza grigia periacqueduttale (PAG), dà inizio a comportamenti di risposta difensiva, tramite proiezioni che propagano il segnale di pericolo al centro di controllo motorio del tronco encefalico (LeDoux, 2000).

Dunque, questo circuito diretto, ha la capacità di elaborazione di minaccia ansiogena fondamentale nella regolazione dei comportamenti difensivi istintivi, quali le risposte di fuga o *freezing*, favorendo la rapidità di risposta a un'elaborazione più profonda delle informazioni (Akiki et al., 2025; Tseng et al., 2023). Lo stesso studio identifica le vie indirette come circuiti che coinvolgono aree corticali di ordine superiore, che valutano la minaccia e il rischio in

maniera più riflessiva. Di quelle citate in precedenza le aree che rientrano nel circuito indiretto sono l'ippocampo e la corteccia prefrontale.

L'attività neurale dell'ippocampo può essere utilizzata nella regolazione dell'ansia. Quest'area cerebrale, responsabile per la regolazione delle emozioni e la risposta allo stress, interagisce con regioni corticali e sottocorticali, tra cui PFC, amigdala e ipotalamo. Diverse evidenze scientifiche vedono un'associazione tra ansia e un aumento dell'eccitabilità neuronale dell'ippocampo (Ghasemi et al., 2022).

Invece, la corteccia prefrontale (PFC) laterale, mediale e orbitale è connessa a corteccie associative e limbiche, che sono collegate all'amigdala e ad altre strutture autonome del tronco encefalico, responsabili per l'arousal emotivo e fisiologico. I circuiti, presenti nella PFC, collegano varie regioni corticali e contribuiscono a potenziare i segnali e a ridurre il rumore, aiutando le operazioni cognitive implicate nell'elaborazione dell'ansia (Kenwood et al., 2022). Alla luce di questo, la PFC ha il ruolo di incorporare segnali neurali provenienti da diversi sistemi: sensoriali, motori e limbici e di codificare azioni ed esiti volti a raggiungere un obiettivo, pianificare il comportamento in maniera flessibile e adattiva in base alle richieste ambientali. Specialmente stati emotivi negativi, come paura e ansia, hanno un grande peso sui processi decisionali condizionati dalla PFC (Jacobs & Moghaddam, 2021).

Un'altra area connessa a livello sottocorticale e limbico è la corteccia cingolata anteriore dorsale (dACC), identificata come componente del circuito della salienza (*Salience Network*). Questo network è responsabile per il rilevamento di eventi salienti specialmente quelli relativi alla minaccia ed errori. Inoltre, potenzia i sistemi di monitoraggio del conflitto, i centri interocettivi-automatici e quelli utilizzati per l'elaborazione della ricompensa (Seeley et al.,

2007). Questo circuito è altresì iperattivato in soggetti ansiosi causando un aumento sia del monitoraggio nelle prestazioni, sia una maggiore sensibilità a stimoli negativi.

Dunque, lesioni, deterioramento o alterazioni a parti della PFC, potrebbero contribuire allo sviluppo di caratteristiche tipiche dei disturbi d'ansia quali: bias negativo, inabilità di regolazione dell'arousal autonomico e comportamenti di evitamento (Kenwood et al., 2022).

A livello di sistemi fisiologici coinvolti nell'ansia, vediamo principalmente l'asse ipotalamo–ipofisi–surrene (HPA). Specificamente, l'HPA è un sistema neuroendocrino responsabile per la gestione dello stress (Dunlavey, 2018). Questo sistema interagisce con diversi sistemi fisiologici, e mantiene l'omeostasi fisiologica, grazie alla secrezione del cortisolo, un ormone glucocorticoide. In situazioni di stress acuto, l'asse HPA utilizza le risorse corporee, cognitive, aumenta la frequenza e la pressione cardiaca e la secrezione di cortisolo. Quando questo tipo di stress passa da acuto a cronico, quindi c'è un'ipersecrezione di cortisolo, avviene uno squilibrio fisiologico e ormonale, vedendo una deregolazione della modulazione di circuiti prefrontali-limbici, quali la PFC e l'amigdala, circuiti ricchi di recettori glucocorticoidi, fondamentali per la regolazione delle emozioni (Ariño-Braña et al., 2025).

1.2 Modelli Teorici sull'Ansia

I modelli teorici dell'ansia dimostrano come questo disturbo emerga dalla reciprocità tra alterazioni neurobiologiche, discusse nel sottocapitolo precedente, e fattori cognitivi e comportamentali che influiscono sui meccanismi di sviluppo e mantenimento. Uno dei modelli teorici che influisce sull'ansia è il modello cognitivo di Beck (Beck & Clark, 1997). Il quale si basa su schemi che si articolano in tre fasi: “(a) la registrazione iniziale di uno stimolo minaccioso; (b) l'attivazione di una modalità primaria di minaccia; e (c) l'attivazione secondaria di modalità di pensiero più elaborate e riflessive” (Beck & Clark, 1997). In uno

studio del 2010, Clark e Beck, descrivono i tre livelli come strutture mentali stabili che conducono l'elaborazione dell'esperienza. Il loro contenuto è costituito da credenze e atteggiamenti, che sono centrali nel determinare le risposte emotive. Per esempio, nell'ansia spiccano credenze di minaccia e vulnerabilità. Quindi questi schemi sostengono un'elaborazione distorta dell'informazione, favorendo la creazione di bias selettivi e la comparsa di pensieri negativi che mantengono lo stato emotivo.

Un altro modello pertinente a questo capitolo è l'*Attention Control Theory*. Questa teoria sostiene che l'ansia compromette il funzionamento del sistema attentivo, aumentando l'importanza di processi automatici guidati dagli stimoli. Questo risulta in una riduzione del controllo attentivo e un aumento dell'attenzione rivolto verso stimoli minacciosi, interni ed esterni. Specialmente, l'ansia condiziona le funzioni esecutive: l'inibizione e lo shifting. Ciò nonostante, non sempre questo stato emotivo compromette la qualità della prestazione, in quanto le persone possono compensare con un maggior sforzo cognitivo, anche se l'efficienza dell'elaborazione risulta ridotta (Eysenck et al., 2007). Dunque, è rilevante sottolineare l'importanza di queste teorie in quanto entrambe dimostrano come il contenuto di credenze disfunzionali, spiegate nel modello cognitivo di Beck, con meccanismi cognitivi, visti nell'*Attention Control Theory*, regolino l'elaborazione dell'informazione emotiva. Infatti, permettono di comprendere sia processi inferenziali sia le alterazioni del controllo attentivo che concorrono nell'ansia.

1.3 Distinzione tra Ansia Specifica e Ansia Generale

L'ansia può verificarsi in circostanze differenti dipendendo dalla tipologia di stimoli che la evocano e dall'estensione dei contenuti cognitivi coinvolti. In particolare, la letteratura distingue forme di ansia più generalizzate da quelle più specifiche (Starcevic, 2006).

L'ansia specifica viene elicitata da uno stimolo mirato, come visto in casi di fobie specifiche. In queste condizioni la risposta ansiosa viene attivata in presenza dello stimolo minaccioso. Studi hanno evidenziato come l'ansia specifica sia associata ad un'attivazione automatica, resistente al controllo cognitivo, e associata ai circuiti di minaccia, specificamente l'amigdala (Öhman & Mineka, 2001). Il disturbo d'ansia generalizzato come definito dal Manuale Diagnostico (DSM-5) coinvolge uno stato d'ansia e preoccupazione cronica ed eccessiva, sproporzionata agli eventi quotidiani (American Psychiatric Association, 2013).

In conclusione, l'ansia specifica è caratterizzata da stimoli ben specifici e risposte rapide per evitare l'evento o lo stimolo minaccioso, mentre nella GAD la preoccupazione è diffusa e persistente nella vita giornaliera. Questa distinzione è importante in quanto evidenzia come l'ansia si associ ad eventi e situazioni differenti, ma anche si distingue per contenuti cognitivi e attentivi nella sua regolazione.

1.4 Bias Attentivi dell'Ansia

I bias attentivi, o *attentional bias*, sono delle caratteristiche cognitive viste spesso nei disturbi d'ansia, manifestatisi con una tendenza a mantenere l'attenzione verso informazioni salienti, percepite come minacciose (Cisler & Koster, 2010). Si riferiscono a una difficoltà dell'individuo a disimpegnare l'attenzione da degli stimoli percepiti come minacciosi. Secondo alcuni modelli cognitivi dell'ansia, visti nel sotto capitolo 1.2, queste distorsioni attentive portano al mantenimento dello stato ansioso, sovrastimando il pericolo e causando una riduzione dell'elaborazione delle informazioni neutre e positive.

Gli autori Cisler & Koster (2010) hanno suddiviso gli *attentional biases* in tre diversi sottocomponenti: (1) facilitazione attentiva, dove il cervello ha la tendenza di direzionarsi

direttamente sullo stimolo minaccioso o pericoloso non appena viene visto; (2) la difficoltà di disimpegno, una volta che il cervello si è direzionato sullo stimolo minaccioso, questo ha grosse difficoltà a disancorarsi, dunque mantiene i livelli d'ansia alti in quanto il soggetto è come “bloccato” sul pericolo percepito; (3) evitamento attentivo, visto principalmente in soggetti con ansia elevata o cronica, in cui dopo un iniziale focus attentivo sull'evento minaccioso, il soggetto esprime un comportamento evitante, cercando di rimuovere la sua attenzione per diminuire l'ansia percepita. Questi bias sono conformi sia al modello cognitivo di Beck (1997), dove schemi maladattivi connessi alla minaccia conducono l'elaborazione, sia all'*Attentional Control Theory* (Eysenck et al., 2007), in cui l'ansia danneggia il controllo attentivo, condizionando i processi automatici e la sensibilità agli stimoli minacciosi.

In letteratura possiamo vedere come individui a rischio o diagnosticati con ansia mostrino bias attentivi in tutti e tre i sottocomponenti visti precedentemente, iniziando con un orientamento facilitato, seguito da difficoltà di disancoraggio ed infine evitamento. Questi bias vengono associati ad alterazioni a livello dei circuiti neurali prefrontali-limbici e sensoriali, ed hanno un effetto a cascata sulle tre sotto componentistiche (Okon-Singer, 2018). Inoltre, studi di neuroimmagine evidenziano che i bias attentivi rivolti verso stimoli minacciosi coinvolgono sia circuiti corticali che sottocorticali, specialmente il sistema amigdala-corteccia prefrontale. In particolare, nell'ansia si osserva un'iperattivazione dell'amigdala connessa ad una ipoattivazione prefrontale. Infatti, varie regioni della PFC contribuiscono al controllo attentivo, lavorando insieme nella regolazione delle risposte alla minaccia (Valadez, 2022).

Svariati studi vedono l'importanza dell'analisi dei bias attentivi, in quanto può essere investigata attraverso vari task, tra cui lo Stroop emozionale ma anche l'Affective Flanker task, in concomitanza con misure elettrofisiologiche. Un esempio concreto di questa tipologia di

studi è la ricerca di Trujillo et al. (2021), che ha esaminato l'attention bias, in un gruppo di 32 soggetti, durante un emotional flanker task contemporaneamente ad una registrazione EEG. Questo studio ha trovato che stimoli emotivamente salienti interferiscono con il controllo attentivo causando un aumento della difficoltà di inibizione delle informazioni irrilevanti. Mentre le misure elettrofisiologiche suggeriscono un orientamento automatico verso gli stimoli emotivi. Queste evidenze supportano l'idea che in situazioni d'ansia, i bias attentivi influenzano sia la performance comportamentale che quella neurale.

1.5 Conflitto Cognitivo ed Interferenze da Distrattori Emozionali

Il conflitto cognitivo è un fenomeno in cui informazioni o idee tra loro contrastanti competono per l'elaborazione, in questa situazione si utilizzano meccanismi di controllo cognitivo per decidere lo stimolo rilevante ed inibire le informazioni irrilevanti. Questa contraddizione mentale viene spinta da una dissonanza cognitiva che ricerca una risoluzione del conflitto. (Ng et al., 2026). Molti studi utilizzano due diversi task per valutare e studiare l'elaborazione del conflitto cognitivo: Flanker Task e lo Stroop Task. Quest'ultimo è un compito neuropsicologico ampiamente utilizzato sia in ambito clinico che in ambito sperimentale, che valuta la capacità di inibire l'interferenza cognitiva, che avviene quando l'elaborazione di una caratteristica dello stimolo influenza simultaneamente l'elaborazione di un'altra caratteristica dello stesso stimolo (Scarpina & Tagini, 2017). Nella versione classica, ai soggetti viene chiesto di denominare il colore dell'inchiostro utilizzato per la scritta della parola, ignorando il significato semantico, quando il significato della parola e il colore in cui è scritta sono incongruenti, si osserva un aumento dei tempi di reazione, questo è noto come lo *Stroop Effect* (Stroop, 1935).

Nello studio di Rey-Mermet, Gade & Steinhauser (2019) gli autori utilizzano entrambi i task per determinare se l'elaborazione di molteplici conflitti portasse alla risoluzione simultanea oppure sequenziale di test, utilizzando un paradigma che combinava sia un Flanker che uno Stroop Task. I risultati hanno evidenziato una componente ERP precoce, ovvero la P2, menzionata nel sottocapitolo 2.2.1, associata alla risoluzione del Flanker, mentre una N450, spiegato nel sottocapitolo 2.2.2, è risultata associata allo Stroop. Dunque, la risoluzione di questi conflitti procede in maniera sequenziale, gerarchica. Concetto interessante a livello di conflitto cognitivo in quanto avvengono molteplici inibizioni per completare entrambi i task in un unico paradigma.

Dal punto di vista neurofisiologico molti studi associano il conflitto cognitivo all'attivazione del circuito della salienza, ovvero una rete cerebrale che ha la funzione di selezionare informazioni importanti a cui si deve prestare attenzione. Il nodo principale di questo circuito è la corteccia cingolata anteriore (ACC), menzionata precedentemente in questo capitolo. Nello studio di Van Veen & Carter (2002), gli autori analizzano il ruolo di questa struttura nei processi elaborazione del conflitto cognitivo attraverso risonanza magnetica funzionale (fMRI) e potenziale evento-correlati (ERPs) in compiti di Stroop e Flanker task. Hanno dunque evidenziato come l'ACC si attivi in maniera significativa durante questi compiti, specialmente nelle condizioni incongruenti; quindi, quando le condizioni del paradigma sono risposte concorrenti e/o interferenti. Secondo questo modello gli autori hanno concluso che l'ACC non risolve direttamente il conflitto, ma lo rileva e lo monitora per inviare segnali alle regioni prefrontali, che implementano strategie cognitive adeguate a risolvere il conflitto. Quindi questa rete rileva gli stimoli rilevanti, individua gli errori e/o i conflitti cognitivi per spostare le risorse attentive, al fine di attivare il controllo cognitivo.

L'attivazione dell'ACC agisce come una struttura di monitoraggio nel circuito della salienza, questa attività fa aumentare le oscillazioni frontali theta associate al controllo cognitivo. Dunque, quando il cervello rileva interferenze cognitive o necessita maggiore controllo attentivo attiva l'ACC e di conseguenza aumenta l'attività theta frontale. Queste oscillazioni theta hanno la funzione di canalizzare la comunicazione tra la corteccia cingolata anteriore e altre regioni corticali, specialmente quelle frontali (Cavanagh & Frank, 2014).

Capitolo 2: Elettroencefalogramma (EEG)

L'elettroencefalogramma (EEG) è una tecnica neurofisiologica che viene utilizzata in psicologia e neuroscienze per indagare e studiare processi cognitivi ed emotivi. A differenza di altre tecniche di tipo investigativo l'EEG non è invasivo o doloroso per il soggetto, in quanto gli elettrodi utilizzati per la misurazione vengono posti, sulla superficie dello scalpo con l'aiuto di un gel salino, utilizzato come conduttore. Quindi, non è necessario porre gli elettrodi direttamente sul cervello o andarlo a stimolare elettricamente per avere una misurazione. Per adattarsi meglio a diverse grandezze del cranio le cuffie utilizzate, su cui poi vengono posti gli elettrodi, hanno misure standardizzate, che vengono poste sulla testa del partecipante. Questa tecnica ha un forte vantaggio: un'elevata risoluzione temporale vale a dire che ha un'ottima capacità di registrazione immediata e precisa dell'attività elettrica celebrale, nell'ordine dei millisecondi (ms).

Durante il montaggio, il *set-up*, per la registrazione elettroencefalica si segue uno schema predefinito per il posizionamento degli elettrodi. Infatti, gli elettrodi vengono collocati in riferimento a punti di interesse codificati dal Sistema Internazionale 10-20, ovvero uno standard di collocamento degli elettrodi dove la distanza tra essi è del 10% o 20% della lunghezza complessiva del cranio. Questi si basano su tre punti anatomici di riferimento, facilmente identificabili: nasion, inion e orecchie. Gli elettrodi vengono dunque posizionati ad intervalli regolari partendo da questi punti, seguendo una mappa predefinita per la collocazione degli elettrodi interessati. Ciascun elettrodo è identificato da una sigla predefinita che indica la regione cerebrale a cui appartiene, seguito da un numero: pari l'elettrodo verrà posto nell'emisfero destro, se invece dispari nell'emisfero sinistro. La quantità standard di elettrodi per un partecipante adulto è di 21, di cui due di riferimento e 19 di registrazione. Però, al fine di questa ricerca la quantità di elettrodi utilizzata è minore, in quanto la registrazione EEG era

in compatibilità con una registrazione di functional Near-Infrared Spectroscopy (fNIRS), che per scopo di questa tesi non verranno discussi i risultati.

Per quanto riguarda il contesto di ricerca sull'ansia l'EEG viene utilizzato spesso in associazione a *task* di tipo emotivo, questo permette di identificare correlati neurali associati sia all'elaborazione di stimoli sia ai meccanismi di controllo cognitivo. Vediamo infatti come diversi studi cerchino di fornire informazioni di processi cerebrali mediante attività oscillatorie e potenziali evento-correlati (ERPs) identificati durante una misurazione EEG. Per esempio, lo studio di Kanske & Kotz (2011), utilizza un Erikson Flanker Task, con la presenza di parole emotive, in cui si cercava di vedere se l'emozione di tipo positivo potesse modulare il processo di risoluzione del conflitto, registrando anche i tempi di reazione e il tipo di ERP elicitato. In questa ricerca gli autori hanno trovato che in situazioni di emozioni positive i tempi di reazione sono più veloci portando quindi ad un'accelerazione della risoluzione del conflitto e un aumento della N200, elicitata precocemente in presenza di parole emotive positive. In questo caso possiamo appunto ammirare come gli ERPs possano analizzare le dinamiche temporali delle risposte neurali a stimoli specifici.

Analisi EEG possono anche esplorare l'implicazione che diversi circuiti hanno sui disturbi dell'ansia, come già accennato nel capitolo precedente. Alla luce di queste informazioni, nelle restanti parti di questo capitolo verranno approfondite diverse dinamiche, tra cui i potenziali evento-correlati legati a stimoli emotivi e le principali criticità di questa tecnica di ricerca.

2.1 Event-Related Potentials (ERPs) in Stimoli Emozionali

In studi di processi emozionali, i potenziali evento-correlati (ERPs) sono uno strumento estremamente importante per indagare le dinamiche temporali dell'elaborazione degli stimoli

rilevanti. Il vantaggio dell'esaminazione degli ERPs è l'elevata precisione temporale nelle risposte ai task associate agli eventi specifici. Questo permette di distinguere i differenti stadi in cui avviene l'elaborazione cognitiva ed emotiva.

Infatti, diversi studi dimostrano come stimoli emozionali, specialmente quelli di valenza negativa, riflettano un'elaborazione di preferenza. In particolar modo lo si può vedere in componenti precoci associati all'orientamento attentivo automatico, oppure in componenti tardive che rispecchiano processi cognitivi più elevati e regolazione emozionale. Nello studio di Klumpp & Shankman, (2018) gli autori hanno evidenziato come le componenti ERPs precoci comprendano P1 e P2, che sono associate a processi affettivi, hanno un picco immediato dopo la presentazione dello stimolo. Questo viene visto anche in N2, che viene stimolato da processi automatici attentivi di natura emozionale, risultando in una maggiore ampiezza quindi una maggiore attenzione. Lo stesso ragionamento è stato visto, in questo stesso studio, in relazione a componenti tardive che vengono associate a stadi di elaborazione più profonde in relazione al contenuto emotivo, come la P300. Inoltre, i due autori hanno constatato che oltre ai picchi temporali possiamo anche vedere il 'bias di negatività', di cui si è già parlato in precedenza, dunque la tendenza a prestare maggiore attenzione a stimoli negativi piuttosto che a quelli neutri o positivi, sottolineando la priorità che prendono gli stimoli negativi sia nelle fasi automatiche dell'attenzione che in quelle di elaborazione cognitiva.

Un altro studio che evidenzia questi fatti è quello di Olofsson et al., (2008) in cui hanno compilato una revisione basata su anni di studi sugli ERPs in cui sono state utilizzate immagini di differente valenza: spiacevole, piacevole e con arousal alto e basso, con lo scopo di evocare delle risposte emotive. Hanno dunque trovato che immagini a valenza spiacevole generano ampiezze maggiori in P1, una componentistica precoce, e hanno visto come questa si sia

dimostrata resistente all'abituazione, avendo un tempo di reazione più alto. Pertanto, i ricercatori hanno osservato come latenze ERPs precoci hanno un'ampiezza maggiore per immagini spiacevoli, il che può rispecchiare una preferenza attentiva per gli stimoli negativi in fasi iniziali dell'elaborazione. In sostanza in entrambi gli studi si può riflettere sul fatto che stimoli negativi o spiacevoli possano elicitare potenziali evento correlati precoci e che il livello di arousal dello stimolo possa influenzare la forma dell'onda generata.

In relazione al presente studio, le analisi riguardanti i potenziali evento correlati sono particolarmente rilevanti, in quanto aiutano a comprendere come soggetti con livelli ansiogeni differenti elaborino gli stimoli emozionali. La componentistica che differisce questa tesi dalla letteratura sopra esplicitata è il fatto che gli stimoli utilizzati non sono delle immagini ma un flanker affective task, che utilizza parole di diversa valenza per elicitare una risposta emotiva. Ad ogni modo, le ipotesi formulate per questa tesi prevedono dei risultati simili a quelli esposti precedentemente, in particolar modo prendendo in considerazione l'Early Anterior Positivity (EAP), che verrà introdotto a livello teorico nel prossimo sotto capitolo.

2.1.1 Early Anterior Positivity (EAP)

L'EAP è una deflessione a polarità positiva osservata nelle regioni frontali anteriori con un picco tra i 200 e i 300 ms dopo la presentazione di uno stimolo emozionale saliente per l'individuo (facce, parole, scene), che si manifesta come una modulazione della P2 frontale (o P2a). La sua latenza precoce suggerisce che segnali la cattura precoce ed automatica dell'attenzione da parte di stimoli ad elevata salienza emozionale (Taake et al., 2009; Carolan et al., 2014; Maffei et al., 2021). Ad esempio, nello studio di Taake et al., (2009) gli sperimentatori hanno testato 33 soggetti sani, selezionati in base a un range di livelli d'ansia, da bassa ad alta, a cui hanno somministrato una versione modificata dell'*Emotional Stroop task*

task in cui erano alternati blocchi contenenti parole di minaccia ad altri contenenti parole di valenza positiva. In risposta a stimoli contenenti parole a contenuto di minaccia vi era una modulazione significativa della EAP (200-300 ms) rispetto alle parole neutre, mentre questo effetto era assente in risposta alle parole a valenza positiva su aree frontali anteriori.

Il presente elaborato pone un'attenzione particolare per indagare la sua rilevanza a livello elettrofisiologico ma anche in correlazione alla salienza emotiva in trial con diversa valenza emozionale, soprattutto in relazione a blocchi ansiogeni, utilizzando un altro tipo di *task* da quelli utilizzati precedentemente.

2.1.2 N450

L'N450 è una componente dei potenziali evento-correlati (ERP) che viene associata principalmente ai processi di conflitto cognitivo e controllo attentivo, già spiegati precedentemente. Questa componente si manifesta con una deflessione dell'ERP tra i 350 e i 500 ms dopo la presentazione di uno stimolo, con una distribuzione sullo scalpo fronto-centrale (l'elettrodo Cz in una cuffia EEG standard).

Questa componente ERP viene principalmente riportata in paradigmi di conflitto cognitivo come lo Stroop e il Flanker Task con una latenza tra i 350 e i 500 msec. Nel compito Stroop, confrontando l'attività EEG in risposta a stimoli incongruenti e congruenti, si elicitava un picco negativo a distribuzione centroparietale mediale tra 350 e 500 msec, associata alla rilevazione del conflitto, la cui origine cerebrale è stata modellata alla corteccia del Cingolo anteriore (ACC) (Liotti et al., 2000; West & Alain, 2000; Markela-Lerenc et al., 2004; Ma et al., 2014).

In un altro studio, gli autori hanno indagato il ruolo funzionale della N450 nei processi di conflitto cognitivo, grazie ad un Numerical Stroop Task. Questi hanno osservato un aumento dell'N450 specialmente in condizioni incongruenti, confermando un coinvolgimento di questo ERP nei meccanismi di monitoraggio e risoluzione del conflitto cognitivo. Hanno anche trovato associazioni neurofisiologiche con l'ACC, regione associata al monitoraggio del conflitto, rilevazione degli errori e distributore delle risorse attentive. Dunque, l'attivazione di questa regione cerebrale supporta l'ipotesi in cui questa struttura svolge un ruolo principale nell'integrazione tra controllo cognitivo e regolazione della risposta comportamentale (Szűcs & Soltész 2012).

2.2 Artefatti e Limiti Metodologici Dell'EEG

Per quanto l'utilizzo dell'elettroencefalogramma sia vasto ed estremamente adoperato questa tecnica di ricerca è soggetta a delle limitazioni che devono essere considerate durante la raccolta dei dati e l'analisi. In primis, i segnali EEG sono estremamente inclini alla presenza di artefatti, ovvero segnali non appartenenti alle onde cerebrali ma che vengono catturati dal macchinario e che 'sporcano' il segnale che si sta acquisendo. Per esempio, si possono identificare artefatti di tipo biologico creati dalle funzioni fisiologiche del partecipante, tra questi si possono identificare i *blink*, ovvero dei movimenti oculari o anche attività di contrazione muscolare. Altri di origine non biologica potrebbero essere delle interferenze elettriche ambientali come le interferenze di rete, quindi il rumore causato dal passaggio della corrente elettrica. Dunque, è necessario tenere conto di queste limitazioni e cercare di abbassare la probabilità di acquisizione di segnale 'sporco', inoltre durante le analisi post-registrazione è consuetudine pulire il segnale da tutti questi artefatti non desiderati. La pulizia del segnale, quindi di filtraggio dei dati, potrebbe causare una perdita parziale di informazioni, ergo è imperativo che durante l'acquisizione la presenza di artefatti sia minima.

Un'altra limitazione tipica dell'EEG è la ridotta risoluzione spaziale che si aggira nell'ordine di alcuni centimetri a livello dello scalpo (Nunez & Srinivasan, 2006). Questo rende difficile la localizzazione precisa delle onde neurali del segnale registrato. Infatti, è impossibile, utilizzando questa tecnica, determinare in modo univoco la posizione delle sorgenti corticali a partire dai segnali registrati sullo scalpo. Di conseguenza, l'interpretazione di questi segnali elettroencefalografici richiede molta cautela e un'attenta valutazione metodologica (Michel et al., 2004).

Per quanto riguarda il presente studio, tali limitazioni sono state prese in considerazione e relativi aggiustamenti sono stati fatti per ottenere un segnale il più pulito e veritiero possibile. Si tenga sempre conto che possibili micro-artefatti potrebbero sempre essere presenti anche durante l'elaborazione e l'analisi dei dati.

Capitolo 3- Stimolazione Transcranica a Corrente Alternata (tACS)

La stimolazione transcranica a corrente alternata (tACS) fa parte di un macro-gruppo di tecniche di stimolazione cerebrale chiamate NIBS, ovvero *non-invasive brain stimulation*. Le NIBS sono tecniche che vanno a stimolare l'attività neuronale in maniera neuromodulare e non invasiva. Una neuromodulazione ha la capacità di influenzare in modo reversibile l'attività neuronale, grazie all'eccitazione o inibizione di popolazioni di neuroni che si stanno stimolando.

Dunque, le tecniche NIBS consistono nella modulazione di aree cerebrali, attraverso l'applicazione di correnti elettriche dirette, alternate o tramite la generazione di campi elettrici indotti magneticamente sullo scalpo. Questi differenti metodi permettono di ricavare diversi output misurabili. Come nel caso di stimolazioni ripetute si possono modulare l'eccitazione e l'inibizione neurale; in quest'ultimo caso si può usare questa tecnica non solo a scopo di ricerca ma anche a scopi terapeutici (Kesikburun, 2022).

Infatti, le NIBS possono essere utilizzate a livello cognitivo comportamentale per individuare una relazione tra l'area stimolata e i processi cognitivi associati, vista prettamente in ricerche scientifiche (Polanía et al., 2018). Invece in ambito clinico si utilizzano le tecniche NIMBS, in cui si va a stimolare in maniera reversibile l'attività neuronale con lo scopo di creare un effetto temporaneo di medio-lungo periodo, per alleviare la sintomatologia similmente alla terapia farmacologica.

In questo progetto di ricerca è stato possibile approfondire entrambi questi aspetti, si individua una relazione causa effetto tra le aree stimulate e il processo cognitivo, a livello clinico si può investigare un'applicazione della stimolazione in soggetti ad alti tratti ansiosi.

3.1 Meccanismi d'Azione nelle Oscillazioni Neurali

La tACS è una tecnica di stimolazione non-invasiva che eroga una stimolazione elettrica alternata. Dunque, vengono applicate deboli correnti elettriche sullo scalpo (1-2 mA) per alcuni minuti con una frequenza oscillatoria fissa, che segue un andamento sinusoidale, in un range dai 0.1-1000 Hz. Lo sperimentatore deve individuare una frequenza specifica che verrà utilizzata e rimarrà costante per tutta la durata della stimolazione. L'erogazione della stimolazione ha la capacità di modificare i ritmi oscillatori cerebrali attraverso l'*entrainment* neurale. Questo fenomeno è l'abilità che ha la tACS di sincronizzare o desincronizzare le oscillazioni corticali, per influenzare la scarica dei neuroni. Quindi allineando l'attività neuronale con la frequenza preimpostata della stimolazione. Ad esempio, molti studi sulla tACS hanno progettato di neuromodulare l'attività cerebrale in base a una specifica frequenza, ma evidenze attuali hanno trovato che questa tecnica può condizionare interazioni tra differenti frequenze oscillatorie. In sostanza, la modulazione delle oscillazioni cerebrali dimostra relazioni causative tra stimolazione cerebrale e i processi cognitivi, dando quindi importanti riscontri sul funzionamento cognitivo (Herrmann et al., 2016).

Un'altra caratteristica distintiva di questa stimolazione, e in generale di tutti i tipi di stimolazione elettrica, è l'abilità di indurre una neuromodulazione a medio-lungo termine, senza generare un potenziale d'azione ma cambiando solamente la permeabilità della membrana neurale. Quindi cambiando il flusso ionico delle membrane si modifica il suo potenziale e la sincronizzazione neuronale. Questo cambiamento interno influenza l'eccitabilità cellulare e la trasmissione sinaptica, in quanto all'interno del neurone c'è un potenziale di membrana diverso rispetto all'ambiente extracellulare che va a modificarsi durante la stimolazione, causando differenze di voltaggio tra l'ambiente intra ed extra cellulare. Di conseguenza si allinea l'attività neuronale con la frequenza impostata della stimolazione

(Herrmann et al., 2013; Antal & Paulus, 2013; Vossen et al., 2015). Quest'ultimo aspetto è particolarmente importante in quanto in situazioni di iperattività di determinate aree cerebrali, come nel caso di soggetti ad alto tratto ansiogeno, una stimolazione elettrica alternata potrebbe aiutare a ridurre questa iperattivazione e quindi di conseguenza ridurre la sintomatologia che ne consegue.

3.2 Evidenze Empiriche nell'uso della tACS

Negli ultimi anni molti studi hanno indagato gli effetti della tACS in popolazioni affette da disturbi psicologici, ma anche i suoi effetti a livello di processi cognitivi. Lo studio di Wischnewski & Schutter (2017), ha analizzato gli effetti della stimolazione tACS sulle onde cerebrali theta e delta elicitate durante task decisionali che comprendevano meccanismi di ricompensa o punizione immediati. Hanno trovato che, in 24 partecipanti sani sottoposti a tre tipi di stimolazione, la tACS riduce l'attività evocata, specialmente in delta, in particolare nelle frequenze inferiori a quelle della stimolazione. Aggiungendo però, che nel caso della frequenza theta non fossero state stimulate reti neurali coinvolte nella generazione di queste onde, ergo sarebbe necessario un ulteriore approfondimento.

Un altro studio ha indagato gli effetti della tACS in 79 partecipanti sani, divisi in tre gruppi di stimolazione. Lo studio ipotizza che soggetti con disturbi neuropsichiatrici quali depressione, ansia e schizofrenia possano presentare difficoltà nell'elaborazione emotiva e nelle oscillazioni cerebrali, nella banda alfa. Hanno utilizzato la tACS in corteccia dorsolaterale prefrontale (dlPFC) per valutare il suo effetto nella modulazione dell'attenzione agli stimoli emotivi cercando di sincronizzare le oscillazioni neurali, durante un compito di identificazione delle emozioni facciali utilizzando un paradigma *oddball*. I risultati vedono una correlazione positiva tra l'aumento dell'onda alfa frontale e la P200 (chiamata anche P2), responsabile per

l'elaborazione precoce dell'attenzione, suggerendo un miglioramento post-stimolazione dell'attenzione emotiva nelle fasi iniziale dell'elaborazione (Liu et al. 2023).

I seguenti studi utilizzeranno la stimolazione tACS in partecipanti affetti da disturbi psicologici diagnosticati, tra cui disturbo d'ansia e depressivo. Iniziando con lo studio di Lee et al (2024) che ha coinvolto 24 soggetti affetti da disturbo d'ansia sottoposti ad una singola sessione di tACS, applicata esclusivamente all'emisfero destro, con frequenze appartenenti alla banda theta. Successivamente, gli sperimentatori hanno confrontato l'attività EEG pre- e post-stimolazione, similmente a quello fatto in questa tesi. I risultati dimostrano un aumento della sincronizzazione di fase theta nelle regioni stimulate: frontali, parietali e temporali destre. Provando che una modulazione è possibile nelle interazioni funzionali tra diverse aree cerebrali durante una stimolazione tACS theta, e un possibile rinforzo nella connettività fronto-parietale che potrebbe portare benefici nella regolazione sia dell'ansia che del controllo cognitivo.

Chen et al. (2024), hanno invece prodotto una rassegna teoria e clinica sull'uso della tACS come nuovo trattamento per i disturbi d'ansia, con lo scopo di analizzare il ruolo delle oscillazioni neurali nell'ansia durante la stimolazione e la neuromodulazione dei circuiti cerebrali utilizzati nella regolazione emotiva. Questi autori hanno trovato che studi preliminari sulla tACS sono risultati efficaci nella riduzione dei sintomi ansiosi, soprattutto se nella modulazione della corteccia prefrontale dorsolaterale (dlPFC) e nelle reti fronto-limbiche attivate durante la regolazione emozionale. Inoltre, questi autori identificano la stimolazione theta e alfa come possibile influenza nel controllo attentivo, l'iper-vigilanza e i processi di elaborazione emotiva, normalmente alterati nei soggetti con ansia patologica. Dunque, i ricercatori concludono che la tACS potrebbe essere uno strumento utile per il trattamento di disturbi d'ansia, ma ulteriori studi clinici sono necessari per standardizzare i protocolli.

Per quanto questa tesi si focalizzi strettamente sul disturbo d'ansia e sui tratti ansiosi dei partecipanti, è importante menzionare anche il disturbo depressivo in quanto condivide molti meccanismi neurobiologici, cognitivi ed emotivi con il disturbo d'ansia. Inoltre, questa inclusione è importante dal punto di vista metodologico, perché l'esperimento utilizza il Beck Depression Inventory- 2^a edizione (BDI-II), come uno degli strumenti di valutazione della sintomatologia dei partecipanti allo studio.

Quest'ultimo studio ha valutato l'efficacia della tACS come trattamento per il disturbo depressivo maggiore (MDD). Zhou et al. (2024), hanno diviso, 66 pazienti diagnosticati con MDD, in due gruppi *active* e *sham*. Entrambi i gruppi hanno ricevuto 20 sessioni di stimolazione tACS in un periodo di quattro settimane, in aggiunta al trattamento farmacologico. Post-stimolazione i pazienti sono stati monitorati per altre quattro settimane, per valutare il mantenimento della stimolazione. Hanno dimostrato che il gruppo sottoposto a tACS attiva ha riportato una riduzione della sintomatologia depressiva rispetto al gruppo *sham*, e la stimolazione ha riportato delle modificazioni dell'attività cerebrale rilevante negli ERPs, ipotizzando un miglioramento dell'elaborazione e dei processi cognitivi.

3.3 Applicazione delle tACS e i Suoi Limiti

Nell'utilizzo della tACS il set-up della stimolazione è estremamente importante in quanto è essenziale per la neuromodulazione delle oscillazioni neurali. A differenza di altre tecniche di stimolazione la tACS determina diverse interpretazioni in base al posizionamento dell'anodo e catodo nel circuito, rendendo particolarmente importante la frequenza di stimolazione e la sincronizzazione oscillatoria.

La tACS si contraddistingue rispetto ad alte tecniche NIBS per un montaggio veloce e semplice, costituito da elettrodi che vengono applicati direttamente sullo scalpo in corrispondenza ai siti di interesse. Nel set-up è essenziale identificare l'elettrodo d'interesse e l'elettrodo di riferimento, che può essere sia cefalico che extra cefalico. Per questo esperimento si è utilizzato un elettrodo cefalico. Lo scopo di quest'ultimo elettrodo è quello di chiudere il circuito e di contribuire alla distribuzione del campo elettrico nel cervello. Chiaramente non è necessario avere solamente un singolo elettrodo ma si possono avere più elettrodi posizionati in modo conforme per una stimolazione. Nel caso di questo esperimento, per la stimolazione tACS, sono stati utilizzati cinque elettrodi.

L'elettrodo d'interesse deve essere posto sullo scalpo del partecipante, quindi sul sito che va ad essere modulato oppure in corrispondenza all'area cerebrale corticale che va ad essere stimolata. Il secondo elettrodo, ovvero quello di riferimento, posizionato cefalicamente, tre centimetri e mezzo rispetto all'elettrodo d'interesse, è un elettrodo di ritorno che chiude il circuito. La distanza tra gli elettrodi va a determinare la grandezza del campo elettrico; quindi, più gli elettrodi sono distanziati più il campo elettrico è diffuso portando dunque anche al cambiamento della risoluzione spaziale della stimolazione elettrica.

Lo stimolatore è alimentato da una batteria, a cui sono collegati i cavi catodici e anodici in base al tipo di stimolazione che viene eseguita. Nel caso di un montaggio elettrodo a più elettrodi, come in questo caso, il set-up viene fatto in modo simile a quello di una registrazione EEG, in cui viene utilizzata una cuffia standardizzata 10-20. Vengono dunque utilizzati elettrodi positivi, anodi, elettrodi negativi, catodi, che creano un circuito chiuso in cui nel mezzo viene posto il partecipante. Dopodiché, avviene una stimolazione di 20 minuti che può essere di tipo eccitatoria o di tipo inibitoria in base all'elettrodo d'interesse: se di tipo eccitatoria l'elettrodo

di interesse è un anodo, se di tipo inibitoria sarà un catodo. Questa distinzione dipende dallo scopo dell'esperimento e dal tipo di stimolazione che si desidera fare. Nel caso di questo studio la stimolazione è di tipo anodica.

La tACS presenta diversi vantaggi, tra cui una modulazione specifica non invasiva, con possibilità di *entrainment*, ovvero di sincronizzazione di attività neurale, con alta flessibilità sperimentale in base a ciò che si vuole stimolare. In generale la tACS è una tecnica ben tollerata dai partecipanti che vanno incontro ad un'abituazione alla stimolazione man mano che si esegue. Infine, ha una buona base per essere applicata a livello clinico. Dall'altro lato presenta dei limiti come una mancata standardizzazione del montaggio in applicazioni cliniche, alta variabilità interindividuale; quindi, la stimolazione non varia all'interno dell'esperimento, in quanto il montaggio rimane sempre lo stesso, ma varia a livello anatomico tra soggetti. Un soggetto non sarà mai anatomicamente uguale ad un altro quindi anche la posizione delle sue aree cerebrali potrebbero cambiare, anche solo di un paio di millimetri, causando un cambiamento nel loco della stimolazione. Un'ultima limitazione di questa tecnica è la difficoltà nella replicabilità dei risultati, come visto precedentemente nel sottocapitolo 3.2, molti studi seguono delle linee guida di stimolazione simili ma ottengono risultati differenti rendendo di conseguenza, ardua una standardizzazione.

Capitolo 4- Strumenti Psicometrici Per La Valutazione Dell'Ansia

Lo scopo di strumenti psicometrici è quello di valutare su diverse scale standardizzate la sintomatologia ansiosa e quantificare gli aspetti emotivi, cognitivi e comportamentali associati a questo disturbo. Nello specifico questa ricerca ha usato tre diversi questionari per valutare la divisione dei partecipanti nei tre gruppi sperimentali: *low, moderate, high anxiety*. In aggiunta questi strumenti sono stati usati come ulteriore metodo di paragone per l'efficacia della stimolazione elettrica transcranica a corrente alternata (tACS).

4.1 State-Trait Anxiety Inventory (STAI-Y)

Lo State-trait Anxiety Inventory (STAI-Y) è uno degli strumenti psicometrici più utilizzati in letteratura per valutare l'ansia in ambito clinico e sperimentale. Questo strumento è un questionario *self-report* che ha lo scopo di distinguere due diversi componenti dell'ansia: l'ansia di stato (*state anxiety, STAI-S*) e l'ansia di tratto (*trait anxiety, STAI-T*) (Spielberger et al., 1970). Secondo questo modello, proposto dagli stessi autori, l'ansia di stato è una risposta transitoria a un evento sentito come avverso, definito da sentimenti quali tensione, apprensione, nervosismo e preoccupazione. Mentre l'Ansia di tratto invece ha caratteristiche più stabili riferite allo stato costante della persona che riconosce le situazioni stressanti come pericolose o minacciose (Spielberg, et al., 1983; Thomas & Cassady, 2021).

Lo sviluppo del test iniziò nel 1964 con item comuni per entrambe le tipologie del test, quindi sia per l'ansia di tratto che per quella di stato, con modalità di somministrazione differenti, producendo dunque lo STAI-X (Spielberger & Gorsuch, 1968, cit. in Spielberg, et al., 1983). Successivamente, per incrementare l'affidabilità e la validità di questo strumento gli autori decisero di modificare il 30% le componenti della forma X, creando quindi la forma Y, ovvero quella usata attualmente (Spielberg, et al., 1983). Questa nuova forma ha un totale di 40 item

divisi equamente tra STAI-S e STAI-T; dunque, 20 item per l'ansia di stato e 20 item per l'ansia di tratto, su una scala di risposta Likert a 4 punti che valuta stati emotivi diversi: *S-Anxiety* valuta l'intensità delle emozioni provate in quel momento, mentre la *T-Anxiety* valuta con quale frequenza vengono provate queste emozioni dunque in una scala più globale, generale nella vita comune; con un range di punteggi che vanno dai 20 agli 80, punteggi maggiori indicano un grado di ansia più severo (Julian 2011).

4.2 Anxiety Sensitivity Index- 3 (ASI-3)

Il costrutto di 'sensibilità all'ansia' (*Anxiety Sensitivity*, AS) è la paura delle sensazioni associate all'ansia, questo presuppone che tali sensazioni possano avere ripercussioni dannose a livello somatico, psicologico o sociale. Dunque, l'AS corrisponde a una delle tre paure principali in grado di amplificare o produrre molte paure comuni (Taylor, 1995; Reiss, 1991). Questa sensibilità porta gli individui a un'interpretazione avversa della loro risposta fisiologica, causando un aumento della sintomatologia nei disturbi d'ansia, portando ad un'amplificazione della risposta ansiosa proveniente da stimoli che evocano paura. Questo, contribuisce attivamente al mantenimento e allo sviluppo del disturbo e della sua sintomatologia (Taylor, 1999). Uno studio di Olatunji et al. (2010) ha condotto una metanalisi sul ruolo della preoccupazione patologica in pazienti con disturbo d'ansia generalizzato. Hanno trovato, un'associazione tra i livelli di preoccupazione e la sensibilità all'ansia, supportando dunque l'ipotesi per cui l'AS possa contribuire al mantenimento della sintomatologia ansiosa.

Un indice psicometrico per misurare l'AS è l'*Anxiety Sensitivity Scale* (ASI) creato da Reiss e colleghi nel 1986, come strumento di self-report con lo scopo di valutare e misurare la paura derivata dalle sensazioni ansiose. In primis questo strumento è stato sviluppato come misura unidimensionale, in accordo con l'ideologia che l'AS fosse un costrutto unitario (Reiss &

McNally, 1985). In seguito ad ulteriori studi l'ASI fu sviluppato in componenti multidimensionali, principalmente fu suddiviso in tre dimensioni: somatiche, cognitive e sociali della sensibilità all'ansia (Taylor, 1999). Queste tre divisioni sono evidenze della multifattorialità dell'AS che possono spiegare differenti paure insorte per diverse ragioni. Ad esempio, la sintomatologia cardiaca, dunque una paura a livello fisico/somatico che può svilupparsi come la paura di una qualche patologia medica come un infarto. Nella dimensione cognitiva con la paura di "impazzire" e infine la paura del giudizio sociale, causando rossore facciale o sudorazione che possono portare a ripercussioni sociali e scrutinio altrui.

Ulteriori misure multidimensionali create successivamente, la prima scala ASI, presentavano strutture fattoriali instabili o risultati incoerenti riguardo la replicabilità in letteratura. Per questo Taylor et al., (2007) hanno sviluppato, una nuova scala: l'ASI-3, tramite un'analisi fattoriale di partecipanti sani di nazionalità statunitense e canadese. Questo nuovo indice di misurazione è composto da 18 item; ha lo scopo di valutare l'AS sulle tre dimensioni fattoriali: preoccupazioni fisiche, cognitive e sociali, sopramenzionate.

La validazione di questa scala è stata poi ampliata, da Taylor e colleghi (2007), su campioni di diversi paesi: Francia, Messico, Paesi Bassi e Spagna. Infine, nel 2014 Petrocchi e collaboratori, hanno standardizzato l'ASI-3 in Italia ed hanno validato la struttura trifattoriale ideata da Taylor e collaboratori, valutando le proprietà psicometriche di questa scala in campioni sia sani che clinici.

4.3 Beck Depression Inventory- Secondary Edition (BDI-II)

Il Beck Depression Inventory-II (BDI-II) è un questionario *self-report* utilizzato per la valutazione della sintomatologia depressiva sia in ambito clinico che in ambito di ricerca (BDI-

II; Beck, Steer & Brown, 1996). Questo strumento è stato sviluppato sulla base del modello cognitivo della depressione per il quale la sintomatologia depressiva deriva da principi di pensieri negativi e disfunzionali (Beck et al. 1961). La seconda edizione del BDI, quella correntemente usata, deriva da due versioni precedentemente create. La versione originale del BDI è stata creata nel 1961 era composta da 21 item basati su sintomi emotivi, cognitivi, motivazionali e somatici della depressione.

Originariamente il BDI era stato concepito come un questionario somministrato da personale addestrato tramite intervista clinica, dunque non completamente autosomministrabile (Beck, Ward, Mendelson, Mock & Erbaugh, 1961). Successivamente nel '78 viene introdotta una nuova versione revisionata chiamata BDI-IA, sviluppata con lo scopo di rendere il questionario completamente *self-report*, dunque con la necessità di semplificare la struttura, chiarire maggiormente gli item e le caratteristiche psicometriche dalla versione originale. Infatti, per facilitare l'autosomministrazione vennero rimosse le doppie affermazioni, inserita una scala Likert a 4 punti, con lo scopo di standardizzare i livelli di risposta, e anche un'indicazione temporale specifica per valutare la durata della sintomatologia (Beck & Steer, 1987). Sebbene il BDI-IA presentasse una buona coerenza interna sorsero delle limitazioni a livello diagnostico. Quest'edizione del BDI presentava il difetto di coprire solo 6 su 9 dei criteri necessari per una diagnosi di depressione contenuti nel Manuale Diagnostico e Statistico dei Disturbi Mentali (3^a edizione) (DSM-II), per questa ragione fu necessaria una modifica che portò al BDI-II, la versione corrente e usata anche in questa ricerca (Beck, Steer & Garbin 1988).

Nel 1996 il BDI-II fu pubblicato come versione aggiornata e in accordo con i criteri diagnostici presenti nel DSM-III e poi la sua versione aggiornata il DSM-IV. Questa nuova versione

presentò modifiche di alcuni item, relative alla sintomatologia vegetativa ovvero sonno e appetito, con lo scopo di migliorare la sensibilità clinica e l'accuratezza diagnostica (Beck et al., 1996). L'interpretazione dei punteggi per questo questionario permette di classificare la gravità dei sintomi depressivi: punteggi tra lo 0 e 13 indicano una depressione assente, punteggi tra 14 e 19 indicano una depressione lieve, tra 20 e 28 una depressione moderata, mentre punteggi superiori a 29 risultano coerenti con una depressione grave (Beck et al., 1996). Grazie a questa classificazione si può utilizzare il BDI-II sia come strumento di screening sia come misurazione della gravità clinica del disturbo depressivo, tenendo conto anche del cambiamento sintomatologico temporale. Questo porta ad un aiuto e intervento efficace non solo a livello terapeutico ma anche in studi clinici e neuroscientifici, come in questo caso.

Capitolo 5- Affective Flanker Task (AFT)

5.1 Flanker Task

Durante l'esecuzione di un compito attentivo, i soggetti sono chiamati a dividere le proprie risorse attenzionali, focalizzandosi sugli stimoli rilevanti per il compito, e allo stesso tempo inibendo le informazioni distraenti e irrilevanti dell'ambiente che li circonda. In queste situazioni è necessaria l'attivazione dei processi di controllo cognitivo, poiché' gli stimoli rilevanti e irrilevanti possono generare tendenze di risposta contrastanti (Posner & Fan 2008).

Il modo in cui avviene questo controllo cognitivo e come vengono risolti tali conflitti rappresenta una questione rilevante in ricerca da molti anni, specificamente in compiti di compatibilità stimolo-risposta. In questi tipi di studi gli stimoli target rilevanti sono circondati da stimoli irrilevanti associati alla stessa tendenza di risposta (condizione congruente) o ad una tendenza opposta (condizione incongruente). Questo tipico effetto di conflitto deriva dal fatto che le risposte alle prove congruenti sono più rapide ed accurate rispetto a quelle incongruenti e che l'effetto di adattamento al conflitto venga valutato in base all'interazione tra la prova congruente precedentemente svolta e quella corrente (Alguacil, Tudela & Ruz, 2013).

Il Flanker task, o chiamato anche l'Erikson Flanker task, è uno dei paradigmi maggiormente utilizzati per lo studio dell'attenzione selettiva e del controllo cognitivo. Questo compito viene utilizzato per la prima volta nel 1974, con lo scopo di analizzare le capacità dei soggetti di focalizzare la loro attenzione su uno stimolo bersaglio, mentre si ignorano le informazioni distraenti circostanti (Eriksen & Eriksen, 1974). Nel paradigma sperimentale ai partecipanti viene presentato lo stimolo bersaglio centrale affiancato da serie di stimoli distraenti. Al soggetto viene quindi richiesto di premere il tasto 'freccia' a destra o sinistra in base alla direzione dello stimolo target. Lo stimolo è congruente quando gli stimoli distraenti sono

identici a quello target, stimolo incongruente quando la direzione degli stimoli distraenti è opposta a quella del target, infine lo stimolo è neutro quando lo stimolo distraente non rappresenta né la direzione stessa del target né quella opposta. Dunque, per eseguire il compito i partecipanti devono attuare un controllo cognitivo, inibendo gli stimoli distraenti, i flanker, e focalizzandosi sullo stimolo bersaglio centrale.

5.2 Affective Flanker Task

Affective Flanker Task (AFT) è una variante del classico Eriksen Flanker Task. Questo paradigma si differisce dal Flanker originale in quanto gli stimoli distraenti possiedono una valenza emotiva, che può essere positiva negativa o neutra; quindi, permette di analizzare il modo in cui le informazioni emotive influenzino i processi attentivi e decisionali. Similmente al flanker classico i partecipanti devono sempre rispondere allo stimolo target ignorando gli stimoli flanker, quelli distrattori, però nell'AFT i flanker hanno salienza emotiva che porta ad un aumento del conflitto cognitivo e del carico attentivo.

Per esempio, molto spesso un AFT utilizza espressioni facciali come stimoli. Infatti, diversi studi hanno trovato che c'è un vantaggio nell'elaborazione emotiva rispetto all'elaborazione dell'identità quando si paragona un AFT tra volti della stessa persona e volti di persone differenti. Mueller & Kuchinke, (2016) hanno manipolato l'identità facciale in un disegno between-groups trovando che entrambi i flanker risultano ugualmente efficaci. Dunque, l'elaborazione identificativa rispetto all'elaborazione emotiva dei volti è equipollente e non sono emerse evidenze che portassero alla conclusione che l'elaborazione dell'identità catturi un'attenzione sufficiente da interferire con la valutazione dei volti bersaglio e dei flanker.

Ciò che rimane invariato in questo tipo di Flanker Task sono le variabili di esito, dunque ciò che viene studiato nelle prove congruenti e quelle incongruenti: accuratezza, tempi di reazione e tempi di risposta dell'errore. Nello studio di Feroz et al., (2021) gli autori hanno evidenziato anomalie comportamentali nell'elaborazione emotiva e cognitiva, durante un flanker emotivo e una registrazione elettroencefalica, in individui con alta ansia di parlare in pubblico. Questa ricerca ha riscontrato un effetto flanker maggiore, quindi tempi di reazione maggiori in soggetti con alta ansia di parlare in pubblico, mentre soggetti con bassa ansia di parlare in pubblico furono più veloci nel compito. Rispecchiando le variabili tipiche dei Flanker Task classici. I ricercatori hanno interpretato questi risultati come una compromissione tra l'elaborazione emotiva e cognitiva, ovvero lo stimolo emotivo interferisce con il normale processo cognitivo di gestione del conflitto, causando dei tempi di reazione più lunghi in soggetti con alta ansia di parlare in pubblico.

Capitolo 6- Metodologia

6.1 Obiettivi e Ipotesi di Ricerca

Lo studio presente è stato ideato con l'obiettivo di approfondire il ruolo dell'ansia nei processi di controllo cognitivo e nell'elaborazione di stimoli emotivamente salienti, tramite l'integrazione di misure comportamentali, psicometriche e neurofisiologiche. In particolare, lo studio vuole indagare come differenti livelli di ansia di tratto (*low, moderate e high anxiety*) possano influenzare la capacità di gestire il conflitto cognitivo di fronte a informazioni emotivamente distraenti e se questi processi possano essere modulati attraverso una stimolazione tACS.

La prima ipotesi riguarda la performance comportamentale nell'Affective Flanker Task (AFT). Si ipotizza che i partecipanti appartenenti ai gruppi *Moderate Anxiety* (MA) e *High Anxiety* (HA) mostrassero una prestazione diversa rispetto ai partecipanti *Low Anxiety* (LA), in particolare nelle condizioni che richiedono maggior controllo cognitivo. Specificatamente, si ipotizza che i soggetti con livelli di ansia di tratto più elevati esibissero una maggiore accuratezza associata a tempi di reazione maggiori.

La seconda ipotesi riguarda gli effetti della congruenza e della salienza emotiva degli stimoli. Si ipotizza che le condizioni incongruenti riportino una maggiore interferenza cognitiva rispetto alle condizioni congruenti, avendo un effetto più elevato nei partecipanti con livelli più elevati di ansia di tratto. Inoltre, si ipotizza che i gruppi MA e HA mostrassero un maggiore *attentional bias* per gli stimoli a salienza emotiva elevata, soprattutto nei blocchi a valenza ansiogena.

La terza ipotesi riguarda i correlati neurofisiologici dell'ansia alla baseline. Si ipotizza che i partecipanti MA e HA esibissero una diversa neuromodulazione della componente N450. Parallelamente si ipotizza una risposta più elevata della componente P2a nei soggetti caratterizzati da livelli più elevati di ansia (MA e HA).

La quarta ipotesi sperimentale riguarda gli effetti della tACS. Si ipotizza che la stimolazione tACS attiva produca una riduzione della sintomatologia ansiogena rispetto alla condizione *Sham*, misurata attraverso il punteggio dello STAI-S. Infine, si ipotizza che la stimolazione *Active* determini una riduzione dei correlati neurali, P2a e N450, associati all'elaborazione degli stimoli minacciosi e all'*attentional bias*.

6.2 Partecipanti e Sessioni

La ricerca si è svolta sotto l'autorizzazione del Comitato Etico del Dipartimento di Psicologia dello Sviluppo e della Socializzazione (DPSS) dell'Università degli Studi di Padova. Il reclutamento è avvenuto tra studenti dell'Università di Padova appartenenti ai corsi triennali e magistrali dell'dipartimento di psicologia e di altre discipline, attraverso annunci alle lezioni, dove per la partecipazione era previsto un bonus o una ricompensa economica. La selezione dei soggetti sperimentali è avvenuta previa somministrazione di un questionario demografico, con raccolta di breve storia medica, e due questionari psicologici clinici. Sono stati inclusi nella sperimentazione partecipanti con visione normale o corretta, che hanno attestato di non avere una diagnosi clinica di malattia psichiatrica (depressione, disturbo d'ansia, disturbo di pensiero o del neurosviluppo), che non stessero assumendo farmaci su prescrizione, patologie neurologiche pregresse o in atto (cefalee, epilessia, traumi cranici focali) o disturbi del sonno. Nell'ambito della raccolta della storia medica è stato inoltre chiesto ai partecipanti di indicare l'esecuzione di esami di neuroimmagine o neurofisiologici (TAC, fMRI, EEG), sottolineando

la finalità clinica o diagnostica. Ogni soggetto idoneo ha firmato il consenso informato riguardante le procedure di raccolta dati, di registrazione elettroencefalica (EEG), di stimolazione tACS e i suoi possibili effetti collaterali, quali fastidi in aree frontali, fotopsie.

La raccolta dati è stata completata in un periodo complessivo di circa un anno. Con una partecipazione totale di 69 adulti sani: 9 maschi e 60 femmine, con età media di 23.6 anni (range 21 e i 45 anni). Una volta valutata l'idoneità del campione, i soggetti sono stati divisi in tre gruppi sperimentali: *low anxiety* (n=23), *moderate anxiety* (n=23), *high anxiety* (n=23). Sulla base dei punteggi ottenuti al questionario STAI-T somministrato alla baseline. Di questi 69 soggetti inizialmente reclutati, 3 soggetti si sono ritirati dallo studio dopo la prima giornata di registrazione di dati alla baseline, 5 sono stati esclusi dall'analisi dati a causa di un'accuratezza al task inferiore del 60% e 1 è stato escluso per un errore procedurale verificatosi durante la prova AFT. Raggiungendo così un campione analizzabile di 60 soggetti: 20 soggetti *low anxiety*, 18 soggetti *moderate anxiety*, 22 soggetti *high anxiety*.

Per le analisi pre-post stimolazione tACS, è stato selezionato un sottocampione sperimentale caratterizzato da partecipanti con elevati livelli di sintomatologia ansiosa. La selezione è stata effettuata utilizzando i punteggi dello STAI-T somministrato online e dell'Anxiety Sensitivity Index (ASI-3): sono stati inclusi partecipanti con punteggi allo STAI-T tra i 40 e 45, o superiori, ulteriormente classificati sulla base dei punteggi ottenuti all'ASI-3. Il campione selezionato inizialmente comprendeva 42 partecipanti in totale, assegnati in modo casuale alla condizione di stimolazione *Active* (n=21) oppure alla condizione placebo, *Sham* (n=21), secondo un disegno placebo-controllato, *single-blind*. In seguito, un'esclusione è stata fatta per bassa accuratezza, errori procedurali o drop-out tra la sessione pre-post trattamento, il campione finale risulta composto da 34 partecipanti: *Active* (n= 16) e *Sham* (n= 18).

La procedura sperimentale si articola nel corso di cinque giorni consecutivi, dal lunedì al venerdì, per i partecipanti MA e HA. Mentre, i partecipanti del gruppo LA hanno partecipato solamente alla sessione iniziale di raccolta dati alla *baseline*, il lunedì. Durante la prima giornata, tutti i partecipanti sono stati sottoposti ad una registrazione EEG di base, effettuata durante il completamento dell'Affective Flanker Task (AFT). Al termine del compito, è stato chiesto a tutti i partecipanti, indipendentemente dal gruppo di appartenenza, di completare due questionari: *State-Trait Anxiety Inventory –Y* (STAI-Y) e il *Beck Depression Inventory-II* (BDI-II). Il primo già compilato in precedenza durante la procedura preliminare. Le giornate successive, dalla seconda alla quarta (dal martedì al giovedì), hanno interessato esclusivamente i partecipanti dei gruppi *moderate anxiety* e *high anxiety*, divisi in sottogruppi *active* e *sham*. In queste tre sessioni è stata effettuata la procedura di stimolazione. I partecipanti sottoposti alla stimolazione attiva hanno ricevuto una stimolazione β -tACS a 20 Hz durante la visione di un video della durata di 20 minuti. In seguito, hanno completato l'AFT, in assenza di stimolazione. I partecipanti del gruppo *sham* hanno seguito la medesima procedura sperimentale; Lo stimolatore eroga corrente solo per 30 secondi all'inizio e alla fine della sessione, simulando il tipico formicolio iniziale che i pazienti avvertono quando gli elettrodi si attivano, senza tuttavia produrre un effetto neurofisiologico.

Al termine di ogni sessione di stimolazione β -tACS, ai partecipanti di entrambi i gruppi, veniva richiesto di compilare un questionario volto a identificare possibili sensazioni fisiche percepite durante la tACS e in quali aree dello scalpo fosse stata percepita la stimolazione. Durante la quinta ed ultima sessione di sperimentazione (venerdì), i partecipanti corrispondenti ai gruppi MA e HA sono stati sottoposti a una seconda registrazione EEG, analoga al primo giorno, effettuata durante il completamento del AFT. Al termine della sessione è stata effettuata una terza somministrazione dello STAI-Y. In seguito, tutti i partecipanti appartenenti ai gruppi

moderate anxiety e *high anxiety*, indipendentemente dal tipo di stimolazione ricevuta, sono stati ricontattati per un *follow-up* a distanza di due mesi dall'ultima stimolazione. In tale seduta è stato chiesto loro di completare per l'ultima volta l'AFT e sono stati discussi i risultati ottenuti ai questionari preliminari autosomministrati prima dell'inizio della sperimentazione. In particolare, si è posta molta attenzione alla spiegazione dei punteggi ottenuti all'*Anxiety Sensitivity Index-3* (ASI-3), per approfondire il ruolo della sensibilità all'ansia sui tre assi appartenenti a questo questionario.

6.3 Disegno dello Studio Sperimentale

Il progetto di ricerca è stato condotto nell'arco di cinque giornate consecutive, dal lunedì al venerdì. Prima della partecipazione in presenza alla sessione sperimentale, a tutti i soggetti è stato chiesto di completare tre questionari svolti online: un questionario demografico e due questionari clinici, lo State-Trait Anxiety Inventory-Y (STAI-Y) e Anxiety Sensitivity Index-3 (ASI-3). Quest'ultimo valuta la sintomatologia ansiosa su tre livelli: *Physical Concerns*, *Cognitive Concerns*, *Social Concerns*. Il questionario demografico è stato utilizzato come strumento preliminare per lo screening e la valutazione dell'idoneità dei partecipanti all'esperimento, mentre i questionari clinici, autosomministrati successivamente, avevano l'obiettivo di dividere il campione in tre gruppi sperimentali, sulla base dei punteggi ottenuti: *low anxiety* (LA), *moderate anxiety* (MA) e *high anxiety* (HA).

Le Variabili Indipendenti (VI) sono: la variabile "Ansia" sulla base dei punteggi al questionario STAI-T dei partecipanti (3 livelli: *High*, *Moderate*, *Low Anxiety*); la variabile "Arousal", ossia la tipologia di stimolo presentata durante l'AFT (2 livelli: Neutra, Emotiva); la variabile "Blocco", in base al tipo di parole presenti durante il compito AFT (2 livelli: Positiva, Ansia) e la variabile "Congruenza" (2 livelli: Sì, No). Le Variabili Dipendenti (VD) misurate sono

state l'accuratezza (ACC), i tempi di reazione (RT) e le misure elettrofisiologiche della registrazione EEG.

Le ipotesi dello studio si basano sul modo in cui differenti livelli di ansia possano influenzare i processi di controllo cognitivo e di elaborazione emotiva. Specificatamente a livello comportamentale, si ipotizza che i gruppi *moderate anxiety* e *high anxiety* abbiano una performance diversa rispetto al gruppo *low anxiety* nell'AFT. In particolare, una accuratezza migliore ma con tempi di reazione più lenti. Si prevede un miglioramento di performance nelle condizioni congruenti e un aumento di interferenza cognitiva nelle condizioni incongruenti, indipendentemente dal gruppo sperimentale. Ulteriormente si ipotizza un aumento dell'*attention bias* nei gruppi con livelli d'ansia elevati, in particolare in blocchi a contenuto negativo.

A livello psicometrico si ipotizza una relazione significativa tra i punteggi ottenuti ai questionari clinici e la sensibilità della sintomatologia ansiogena durante il task, specialmente nelle condizioni incongruenti. Si prevede, inoltre, una riduzione dei punteggi allo STAI-T dopo la stimolazione tACS nei gruppi sottoposti alla stimolazione attiva.

Dal punto di vista neurofisiologico, si ipotizza delle modulazioni delle componenti frontali e dell'ERP: Early Anterior Positivity (EAP) e della N450, in particolare in blocchi negativi. Infine, Nella fase post-stimolazione tACS, si ipotizza una riduzione dell'attività neurofisiologica nei soggetti sottoposti a stimolazione attiva rispetto alla condizione *sham*, in particolar modo una diminuzione delle componenti ERPs: EAP e N450. Si prevede, inoltre, una riduzione del conflitto cognitivo e dell'*attention bias* nei gruppi di stimolazione attivi, grazie ad un effetto neuromodulare della stimolazione tACS.

6.4 Strumenti di Misura

Nella ricerca sono stati utilizzati differenti strumenti di misura, tra cui questionari clinici, strumenti di registrazione neurofisiologici e strumenti di neurostimolazione. Ai partecipanti è stato chiesto di completare tre questionari autosomministrabili: ASI-3, STAI-Y e BDI-II. I primi due questionari clinici sono stati utili per stabilire la divisione in gruppi, l'ultimo ci ha aiutato ad approfondire aspetti clinici legati all'ansia. Inoltre, tutti i soggetti sperimentali hanno completato un Affective Flanker Task associato ad una registrazione EEG. Solamente due gruppi su tre sono stati sottoposti alla stimolazione tACS.

6.4.1 Dettagli Questionari di misura: STAI-Y, ASI-3, BDI-II

Il questionario STAI-Y è stato autosomministrato prima dell'arrivo in laboratorio a tutti i partecipanti, analogamente a quanto fatto con l'ASI-3. Inoltre, per i gruppi ad ansia moderata e alta questo questionario è stato somministrato in altre due occasioni: il primo giorno (*baseline*), e il quinto giorno della sperimentazione. Mentre per il gruppo bassa ansia lo STAI-Y è stato risomministrato solamente una volta in concomitanza con la rilevazione *baseline*. Come spiegato precedentemente. Questo questionario è composto da 40 item divisi equamente tra ansia di stato e di tratto, misurati su una scala Likert a 4 punti. Dove 0 indica una sensazione assente e 4 una sensazione elevata. Per ciascuna sottoscala, sia di tratto che di stato, i punteggi hanno un range da 20 a 80. 20 indicando assenza d'ansia, 40 una sintomatologia ansiosa e 80 assoluta ansia (Spielberger et al., 1983).

Il questionario ASI-3 è stato autosomministrato prima dell'arrivo in laboratorio. I soggetti dovevano rispondere a un totale di 18 item valutati su una scala Likert da 0 a 4. Dove 0 indicava una sensazione assente, mentre 4 indicava una sensazione estremamente forte per quell'item. I punteggi sono stati calcolati raggruppando le domande nei rispettivi livelli di preoccupazione:

fisico, sociale e cognitivo. Successivamente sono state sommate le risposte numeriche per ogni categoria e fatto un totale complessivo. Quest'ultimo indicava il punteggio alla Sensibilità all'Ansia.

Per quanto riguarda il BDI-II tutti i partecipanti lo hanno completato una singola volta, durante la prima giornata di sperimentazione, successivamente il completamento dell'AFT. Il questionario è costituito da 21 item, misurati su una scala a Likert a 4 punti, con punteggi compresi tra 0 e 3. Zero indica una sensazione assente e tre indica una sensazione sintomatologica estremamente forte. Il punteggio totale varia da 0 a 63, con valori più elevati indicativi di una sintomatologia più severa. Punteggi da 0 a 7 rilevano depressione assente, 8-17 una depressione lieve, 18-24 una depressione moderata, 25-63 una depressione severa (Beck et al., 1996).

6.4.2 Descrizione del Sistema di Acquisizione EEG

Durante la prima e l'ultima sessione i partecipanti erano seduti comodamente in una stanza schermata, indossando una cuffia fNIRS/EEG. Per ciascun partecipante, attività EEG continua è stata acquisita durante l'AFT. L'EEG è stato registrato con un sistema a 8 canali (FirstAmp, Brain Products GmbH, Gilching, Germania) a una frequenza di campionamento di 500 Hz. Otto elettrodi (argento-cloruro d'argento) sono stati inseriti in una cuffia fNIRS nelle posizioni dello scalpo PO7, PO8, Pz, Cz, Fz, AFz, FP2 (sistema 10-20); due elettrodi esterni sono stati posizionati uno sotto l'occhio sinistro (regione infraorbitale) e uno sopra la mastoide destra (elettrodo di riferimento per la registrazione). POz è servito da elettrodo di terra. La figura 1 mostra la disposizione sullo scalpo degli elettrodi utilizzati. L'impedenza è stata mantenuta al di sotto di 10 k Ω .

Il software Brain Vision è stato utilizzato per filtrare i dati EEG tra 0,1 e 30 Hz, poi applicare un *notch filter* a 50 HZ, poi trasformare l'elettrodo di riferimento alla *average reference* (la media degli otto elettrodi attivi). In seguito, le tracce EEG sono state segmentate in epoche a partire da -200 ms a 600 ms rispetto all'inizio dello stimolo. Sono stati inclusi solo gli ERP relativi alle risposte corrette. L'analisi delle componenti indipendenti è stata impiegata per rimuovere gli artefatti compatibili con l'attività oculare. Gli artefatti oculari residui sono stati rimossi con una finestra scorrevole lungo l'intera epoca (dimensione della finestra: 150 ms, soglia 100 μ V, passo di avanzamento della finestra: 10 ms). Sono state ottenute medie ERP separate per tutte le combinazioni di Blocco (Positivo vs. Ansia), Congruenza (Congruente vs. Incongruente), Salienza (Emotiva vs. Neutra) e Gruppo di Ansia (Alto, Moderato e Basso), sincronizzate con l'inizio dello stimolo e corrette con una *baseline* di 200 ms.

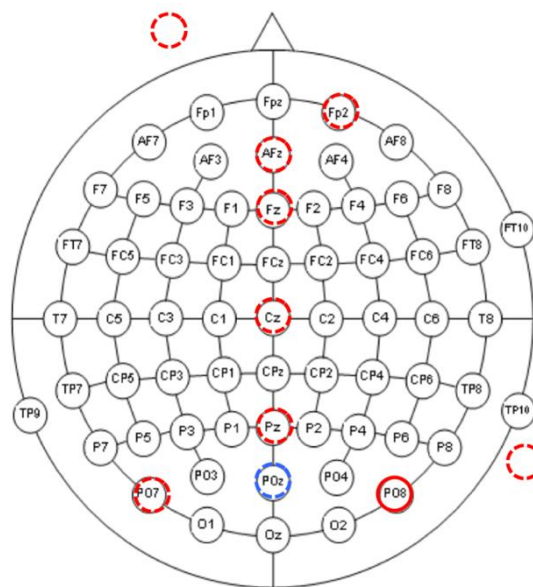


Figura 1: Struttura del sistema di acquisizione EEG

6.4.3 Descrizione Stimolazione tACS

Nel presente studio, la tACS è stata applicata alla frequenza di 20 Hz, con una stimolazione di tipo anodico (figura 2). Gli elettrodi di stimolazione sono stati posizionati in corrispondenza delle regioni corticali d'interesse secondo il sistema internazionale 10-20 (anodo: F3, Catodi: C3, F7, Fz e Fp1) (Figura 3). Durante ciascuna seduta i partecipanti sono stati assegnati alla condizione attiva, in cui hanno ricevuto la stimolazione per tutta la durata della visione del video, pari a 20 minuti. I partecipanti assegnati alla condizione *sham*, hanno eseguito la stessa procedura di *set-up*; tuttavia, la stimolazione è stata erogata solo durante la fase iniziale della sessione, simulando la sensazione percepita durante la stimolazione attiva ma senza produrre un'effettiva neuromodulazione. Alla fine della sessione i partecipanti hanno completato l'AFT e compilato un questionario finalizzato a valutare percezioni soggettive della stimolazione.

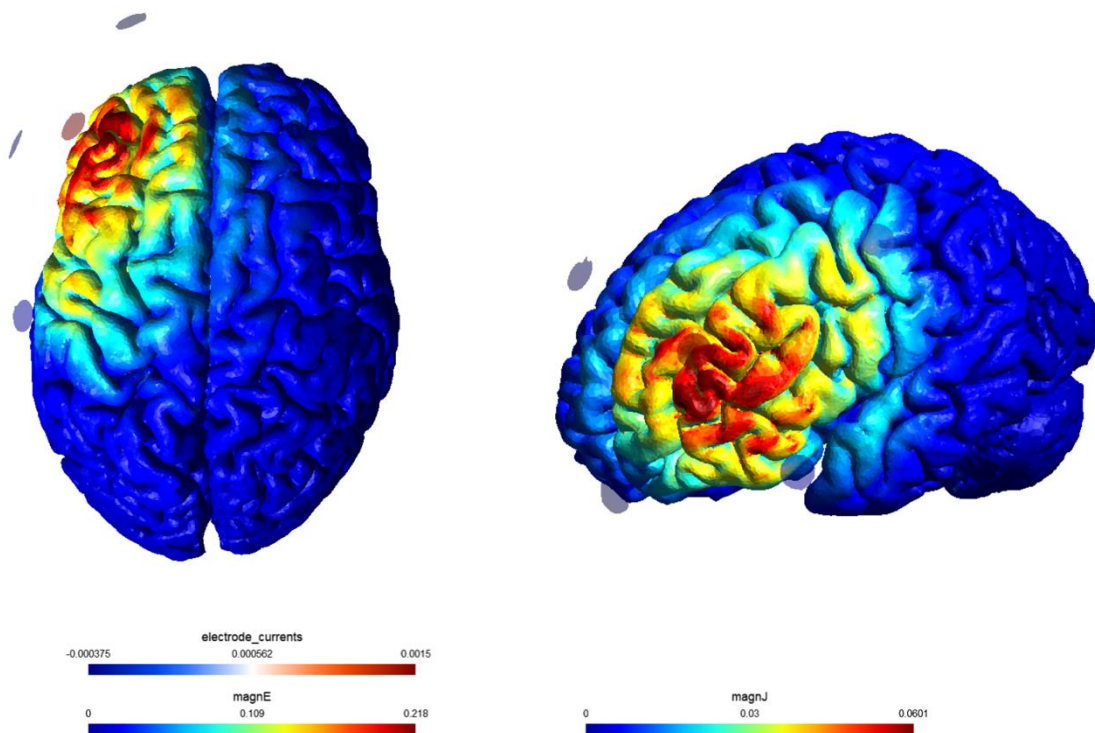


Figura 2: Modellazione computazionale basata sul metodo degli elementi finiti (FEM) che quantifica l'intensità del campo elettrico e la densità di corrente generata durante la stimolazione tACS (Rosato et al., 2025).

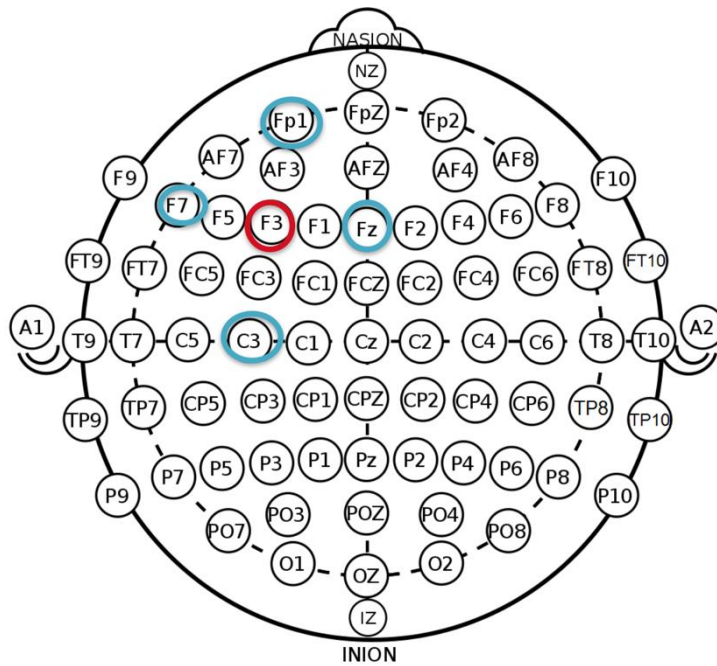


Figura 3: Struttura del sistema di acquisizione tACS

6.4.4 Descrizione dell'AFT

La componente sperimentale della ricerca si basa su un Affective Flanker Task (AFT) eseguito contemporaneamente ad una registrazione EEG per i giorni di baseline e post-stimolazione, mentre un AFT dopo una sessione di stimolazione tACS nei giorni intermedi. Il compito include quattro blocchi emotivi, 2 blocchi Ansia e 2 blocchi Positivi e un blocco neutro, *Flanker-only*, presentato prima dei compiti con valenza emotiva. Ciascun blocco comprendeva 108 prove, dunque 216 prove per ciascuna valenza emotiva e 108 prove *Flanker-only*. Ogni blocco era ulteriormente suddiviso in 6 mini-blocchi composti da 18 prove ciascuno. Ogni prova durava circa 2,5 secondi, avendo una durata complessiva di circa 45 secondi per mini-blocco. Tra un mini-blocco e il successivo si prevedeva un intervallo di recupero di 15 secondi. Al termine di ogni blocco i partecipanti dovevano compilare una griglia di valutazione, utilizzata per il monitoraggio del loro stato emotivo indotto dal compito, la compilazione

durava circa un minuto. Complessivamente, ciascun blocco aveva una durata totale di sette minuti.

Per ciascuna categoria emotiva sono state selezionate 18 parole differenti. Per ogni blocco venivano presentate nove parole, ciascuna ripetuta per tre volte. L'ordine di presentazione degli stimoli era randomizzato al fine di evitare l'effetto pratica. La durata complessiva del task era di 35 minuti. Prima dell'esecuzione del compito, i partecipanti sono stati sottoposti a una condizione di *resting-state* della durata di 15 minuti, in cui avveniva una registrazione EEG a riposo. Pertanto, la durata complessiva della sessione sperimentale risultava pari a circa 50 minuti. La sequenza temporale dell'AFT è illustrata nella figura 3 in appendice.

Il compito richiedeva ai soggetti di identificare rapidamente la direzione dello stimolo bersaglio centrale, ignorando gli stimoli (*Flankers*) laterali e le parole emotivamente salienti. Nello specifico ai partecipanti veniva chiesto di fornire la risposta tramite due chiavi sulla tastiera: premendo il tasto Z quando la freccia centrale punta a sinistra e premendo il tasto M quando la freccia centrale indica verso destra.

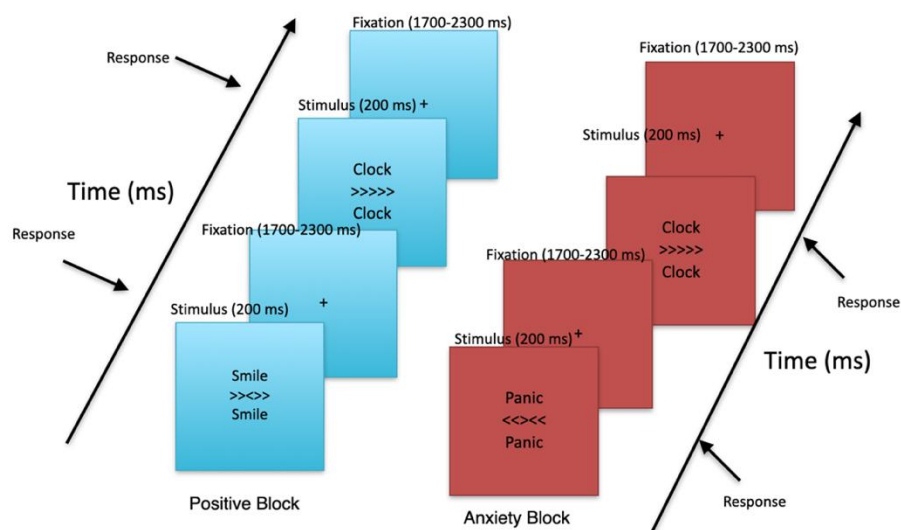


Figura 3: Esempio di compito AFT

Capitolo 7 - Risultati

7.1 Analisi Comportamentali

L'ansia di tratto è stata valutata tramite la somministrazione del questionario STAI-T, i partecipanti sono stati suddivisi in tre gruppi in base ai punteggi di Ansia di Tratto: gruppo Low Anxiety (punteggi ≤ 39), gruppo Moderate Anxiety ($39 < \text{punteggi} \leq 52$) e gruppo High Anxiety (punteggi > 52). Ciascun gruppo è stato creato sulla base del calcolo dei terzili in base alla distribuzione dei punteggi al questionario, per cui tutti i gruppi avevano lo stesso numero di partecipanti ($N=23$). Sono stati esclusi i soggetti che presentavano un'accuratezza inferiore al 60% per controllare lo stato di vigilanza e concentrazione dei partecipanti durante il compito (4 soggetti). Sono inoltre stati esclusi i partecipanti che hanno svolto un numero di trials inferiore del 50% (1 partecipante) e con un errore tecnico nel compito (1 partecipante). Dunque, il campione finale era costituito da 63 partecipanti suddivisi nei tre gruppi: 20 *High Anxiety*, 21 *Moderate Anxiety*, 22 *Low Anxiety*.

Le analisi comportamentali sono state condotte considerando l'accuratezza (ACC), i tempi di risposta (RTs) e l'Inverse Efficiency Score (IES). Per l'analisi dell'ACC come variabile binaria (risposta corretta/errata) è stato utilizzato il Modello Misto Lineare Generalizzato (GLMM). Per l'analisi dei RTs e IES (variabili continue) è stato utilizzato il Modello Misto Lineare (LMM). I fattori inclusi delle analisi sono: il Gruppo (3 livelli: High, Moderate, Low-Anxiety), la Sessione (2 livelli: 1,5), la Congruenza (2 livelli: sì, no), il Blocco (2 livelli: Positivo, Ansia) e l'Arousal (2 livelli: Emotiva, Neutra).

L'analisi dell'ACC con GLMM con distribuzione binomiale e link logit ha evidenziato un effetto principale significativo della Congruenza ($\text{Wald } \chi^2 (1) = 782.67, p < .001$) e un'interazione significativa tra Gruppo e Congruenza ($\text{Wald } \chi^2 (2) = 53.80, p < .001$). Per approfondire la significativa interazione Gruppo $\times$ Congruenza, sono stati calcolati contrasti

dell'interazione basati sulle stime marginali del modello (*emmeans*). L'effetto della Congruenza differisce significativamente tra il gruppo High e il gruppo Low ($\beta = 0.847$, $SE = 0.193$, $z = 4.40$, $p < .001$), tra il gruppo High e il gruppo Moderate ($\beta = -0.456$, $SE = 0.172$, $z = -2.65$, $p = .008$), e tra il gruppo Low e il gruppo Moderate ($\beta = -1.303$, $SE = 0.178$, $z = -7.33$, $p < .001$).

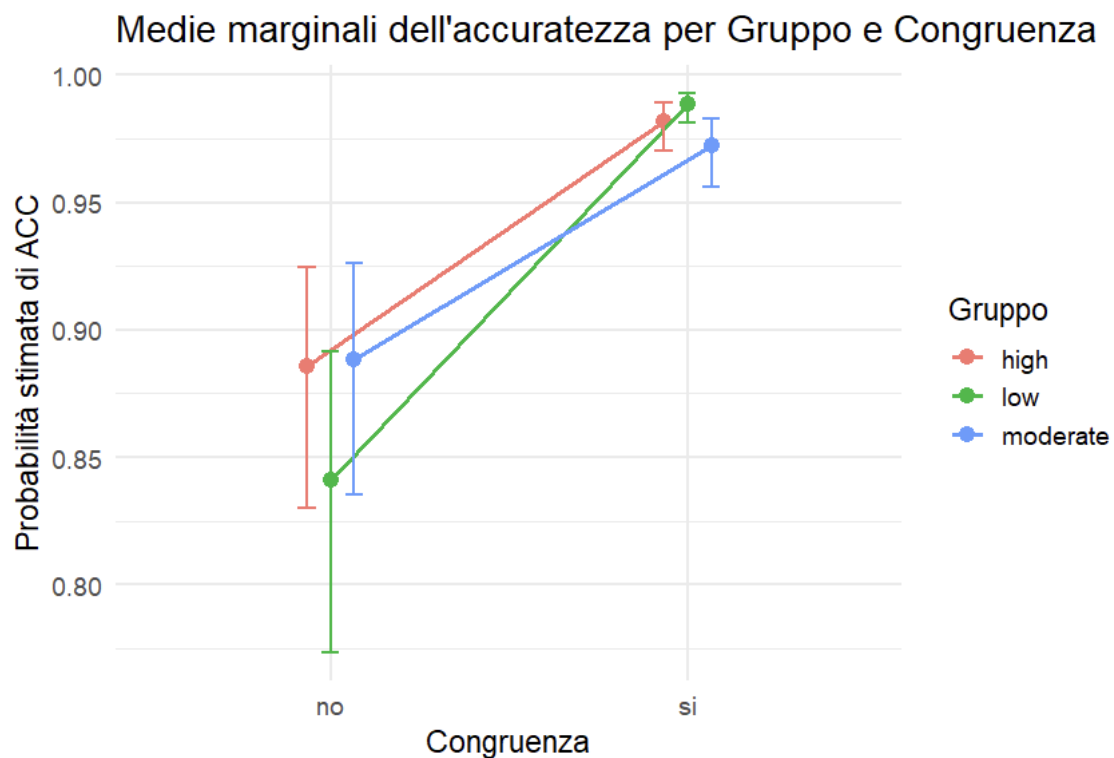


Figura 4: medie marginali dell'accuratezza per Gruppo*Congruenza

Per l'analisi dei RT, i valori sono stati trasformati in logaritmo (*logRT*) per avere una distribuzione normale. Il LMM sui tempi di risposta log-trasformati (*logRT*) ha evidenziato un effetto principale significativo della Congruenza (Wald $\chi^2 (1) = 2988.00$, $p < .001$). L'interazione Gruppo $\times$ Congruenza, in questo caso, non ha raggiunto la significatività statistica; tuttavia, emerge una tendenza alla significatività (Wald $\chi^2 (2) = 5.75$, $p = .056$).

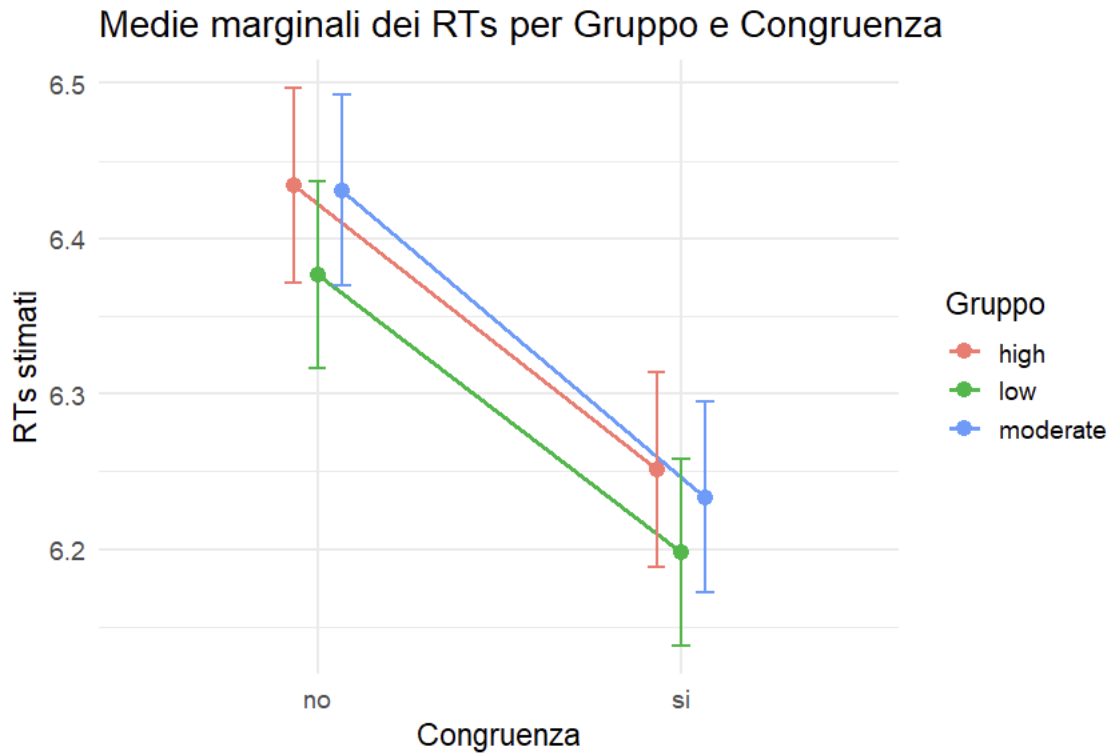


Figura 5: medie marginali dei tempi di reazione (RTs) per Gruppo*Congruenza

Infine, è stato calcolato l'Inverse Efficiency Score (IES) tramite la formula: $IES = \frac{\text{mean_RT}}{[ACC = 1] / (1 - PE)}$, dove PE = percentuale d'errore. L'IES ha evidenziato una significatività Gruppo*Congruenza ($p = .003$). L'analisi IES ha evidenziato un effetto principale significativo della Congruenza (Wald $\chi^2(1) = 67.62$, $p < .001$) e un'interazione significativa tra Gruppo e Congruenza (Wald $\chi^2(2) = 11.42$, $p = .003$).

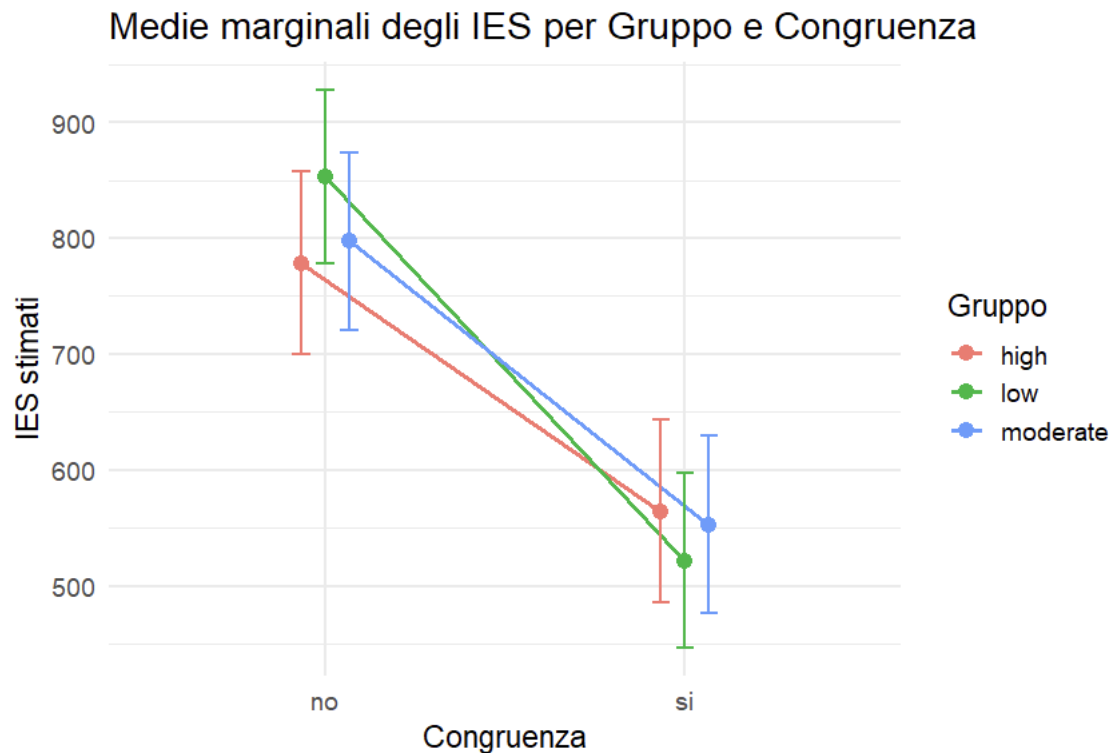


Figura 6: medie marginale degli Inverse Efficiency Scores (IES) per Gruppo*Congruenza

7.2 Analisi ERP alla Baseline

Le analisi ERPs alla *baseline* sono state condotte sulle componenti N450 e P2a (EAP). Le analisi sono state effettuate tramite un'ANOVA a misure ripetute con tre fattori all'interno dei soggetti *within* (Blocco, Congruenza salienza) e a un fattore tra i soggetti (gruppo ansia), utilizzando punteggi dell'ansia di tratto (STAI-T) e punteggi dell'ansia di stato (STAI-S), per valutare possibili differenze tra Ansia di Tratto ed Ansia di Stato.

Analisi basate sullo STAI-T

N450 (350-450 msec). Per la componente N450, è stato utilizzato l'elettrodo Cz (figura 7).

In primo luogo, l'analisi è stata condotta utilizzando il punteggio dello STAI-T come covariata (trattando il punteggio STA-T come variabile continua). In questo caso l'effetto principale della Congruenza era lontano dalla significatività, $F(1,58) = 0.74$, $p = .39$, mentre e l'interazione Congruenza X STAI-T si è avvicinato alla significatività $F(1,58) = 3.43$, $p = .069$.

La successiva analisi per la N450 ha utilizzato la suddivisione dei partecipanti in tre gruppi, sulla base dei punteggi ottenuti allo STAI-T (Low: n=20; Moderate: n=18; High: n=22). In questo caso è stato evidenziato un effetto principale significativo della Congruenza, $F(1,57) = 19.10$, $p < .001$, con la condizione Incongruente più negativa di quella Congruente, mentre l'interazione tra Congruenza e Gruppo, ha nuovamente mostrato una tendenza alla significatività, $F(2,57) = 2.91$, $p = .063$.

P2A (180-260 ms) riguardo alla componente P2a (Early Anterior Positivity), registrata tramite l'elettrodo AFz (figura 7), con il primo approccio di analisi utilizzando i punteggi STAI-T, come covariata, non si sono evidenziati effetti principali né interazioni significative. Tuttavia, l'analisi basata sulla suddivisione in tre gruppi, ha mostrato un effetto principale della Congruenza, $F(1,57) = 5.79$, $p = .019$, con la condizione incongruente più positiva di quella congruente, e un'interazione significativa a due vie Congruenza X Gruppo, $F(2,57) = 3.20$, $p = .048$, spiegata dal fatto che la modulazione della P2 per stimoli incongruenti non era presente per il gruppo ad ansia moderata.

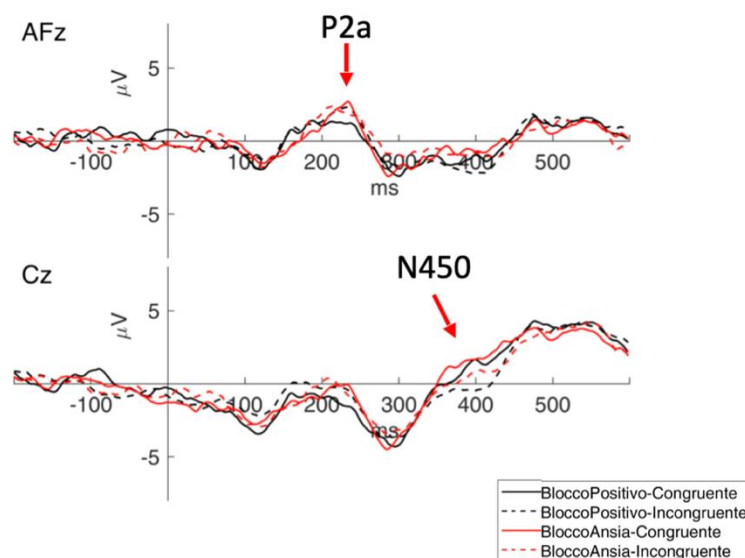


Figura 7: Potenziali evento-correlati (ERP) degli elettrodi AFz e Cz, registrati durante il compito AFT alla baseline.

Analisi basate sullo STAI-S

Le analisi effettuate utilizzando lo STAI-S sono state considerate di natura esplorativa.

L'obiettivo di queste analisi è di verificare se il livello di ansia corrente, possa influenzare la performance comportamentale e i correlati neurofisiologici.

Le stesse analisi sono state ripetute utilizzando i punteggi al questionario STAI-S, basate sui punteggi di Ansia di Stato, categorizzando i partecipanti in tre gruppi (Low=20; Moderate=20; High=20).

N450 (350-450 ms) utilizzando lo STAI-S, per l'N450 è emerso un effetto significativo della Congruenza, $F(1,57) = 21.39$, $p < .001$, con una significativa interazione a due vie Congruenza X Gruppo, $F(2,57) = 5.15$, $p = .009$. (si veda Fig 8 in basso). Questa interazione è spiegata dal fatto che una evidente N450 è presente nei gruppi a bassa o moderata ansia, mentre l'effetto è assente per il gruppo ad elevata ansia di stato, per il quale stimoli Congruenti ed Incongruenti non differiscono tra loro.

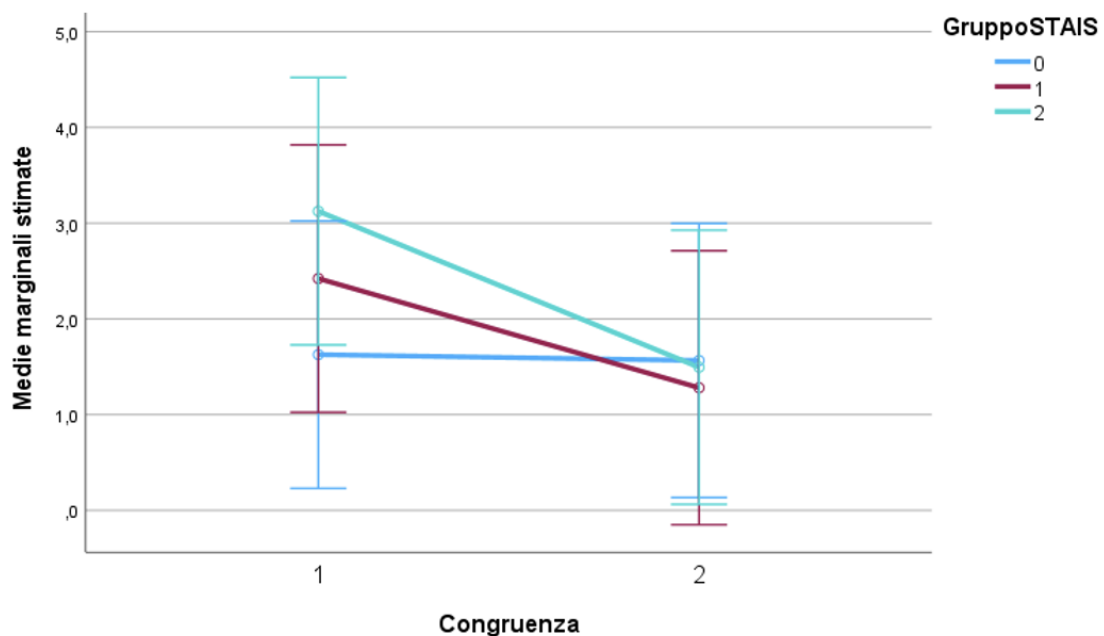


Figura 8: Interazione Gruppo X Congruenza nello STAI-S per l'N450 (Cz)

P2a (180-260 ms).

Per la componente P2a (EAP) è stato trovato un effetto principale della Congruenza, con l'Incongruente più positivo del Congruente, $F(1,57) = 6.20$, $p = .016$, mentre l'interazione a due vie Congruenza X Gruppo era lontana dalla significatività $F(2,57) = 1.32$, $p = .28$.

7.3 Analisi ERP Pre e Post Stimolazione con la tACS

Infine, sono state condotte analisi ERP confrontando le sessioni pre e post stimolazione tACS. I partecipanti appartenenti ai gruppi *High Anxiety* e *Moderate Anxiety* sono stati suddivisi in due gruppi assegnati in modo casuale alla condizione *Active tACS* ($n = 16$) e passive *Sham* ($n = 18$) utilizzando un disegno a placebo controllato *single blind* ANOVA a misure ripetute simili a quelle utilizzate alla baseline sono state anche per questa parte dello studio sugli effetti della tACS.

N450 (350-450 ms) In questo caso si è utilizzata un'ANOVA a misure ripetute a quattro vie all'interno dei soggetti aggiungendo il fattore Sessione (quindi con i fattori Sessione, Blocco, Congruenza e Salienza) e con un fattore tra i soggetti (gruppo: *Active*, *Sham*). Per questa componente è emerso un effetto significativo della Congruenza, $F(1,30) = 32.49$, $p < .001$, con la condizione Incongruente producendo una maggiore polarità negativa della condizione Congruente. Tuttavia, l'interazione a due vie Congruenza X Gruppo, $F(1,30) = 0.106$, $p = .747$, e l'interazione a tre vie Congruenza X Sessione X Gruppo, $F(1,30) = 0.053$, $p = .820$, erano entrambi assai lontane dalla significatività; dunque, non si sono riscontrate differenze tra gruppo *Active*, *Sham* in funzione dell'assegnazione al trattamento attivo tACS o a quello passivo sham

P2a (180-260 ms). L'analisi della componente P2a (EAP), misurata a livello degli elettrodi frontali AFz e Fz, ha prodotto una interazione a due vie significativa Sessione X Blocco, $F(1,30) = 4.74, p = .037$. Nei confronti post-hoc (con correzione Bonferroni) si evidenzia che nella sessione pre-stimolazione il blocco ansioso risulta statisticamente significativo rispetto al blocco positivo ($\text{diff} = -0.485, p = .019$), mentre non risulta significativa nella sessione post-stimolazione ($\text{diff} = 0.123, p > .05$).

Estremamente rilevante è risultata l'interazione a 4 vie Sessione X Blocco X Congruenza X Gruppo, $F(1,30) = 7.36, p = .011$, indicativa di un effetto differente nella componente P2a tra i due gruppi. Sulla base di questa interazione significativa, ANOVA più ristrette sono state condotte all'interno di ciascun gruppo, le quali hanno confermato effetti diversi sulla P2a nei due gruppi di trattamento. Nel gruppo *Active* non vi era significatività degli effetti principali significativi di Sessione, $F(1,14) = 1.29, p = .275$, né Blocco, $F(1,14) = 0.015, p = .90$. Tuttavia, è stato riscontrato un effetto altamente significativo dell'interazione a due vie Sessione X Blocco, $F(1,14) = 7.922, p = .014$. Nella sessione pre-stimolazione il Blocco di valenza Ansiosa presentava valori medi superiori rispetto al Blocco di valenza Positiva ($2.025 \pm 0.71 \mu\text{V}$ vs $1.499 \pm 0.68 \mu\text{V}$; $\text{diff} = -0.526, p = .040$). Nella Sessione Post-stimolazione questa differenza scompariva non risultando più significativa ($1.179 \pm 0.64 \mu\text{V}$ vs $1.658 \pm 0.62 \mu\text{V}$; $\text{diff} = 0.479, p = .11$).

Inoltre, Il confronto tra Blocco di valenza Ansiosa pre e post stimolazione attiva, ha evidenziato una riduzione dell'ampiezza della P2a, ($\text{diff} = 0.846, p = .040$). Inoltre, è anche emersa un'interazione significativa a 4 vie Sessione X Blocco X Congruenza X Elettrodo, $F(1,14) = 8.559, p = .011$. Evidenziando che per l'elettrodo AFz le differenze in voltaggio

della P2a sono particolarmente marcate nella condizione Incongruente del blocco a valenza ansiosa.

Nella figura 9, si illustra l'interazione a due vie Sessione X Blocco osservata nel gruppo *Active*, dove il blocco a valenza ansiosa nella sessione pre-stimolazione presenta l'effetto della tACS attiva nel ridurre questo indice della salienza emozionale. Si possono notare valori medi superiori rispetto al blocco a valenza positiva. Mentre nel post-stimolazione, nel gruppo attivo, il pattern si inverte. Il voltaggio della P2a si riduce della metà dalla sessione pre a quella post stimolazione attiva.

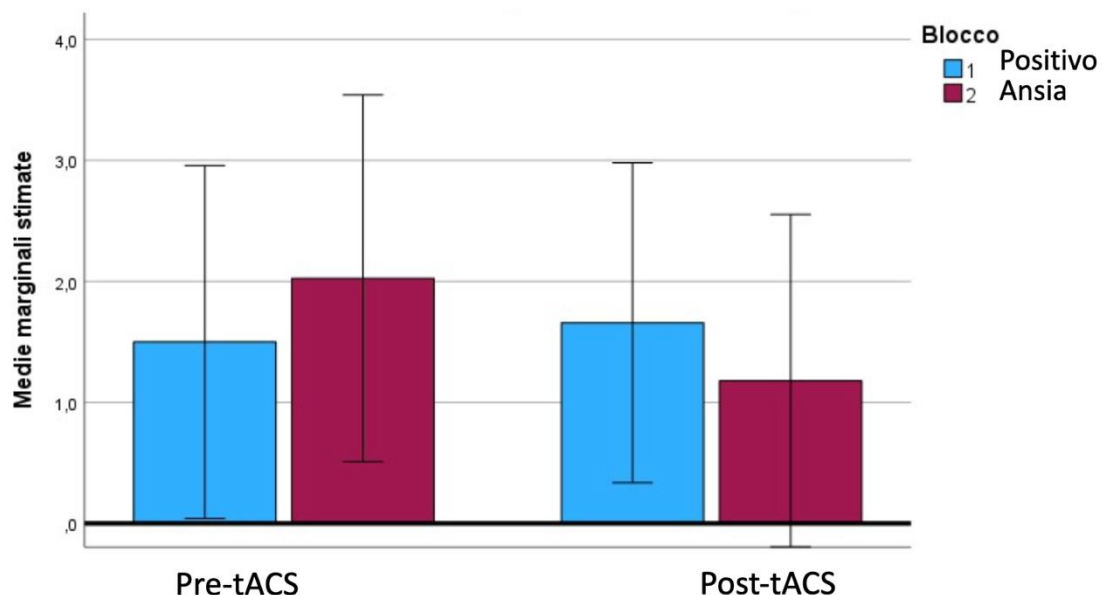


Figura 9: Medie marginali stimate per il gruppo Active tACS nell'interazione Sessione X Blocco

In contrasto, nell'analisi condotta nel gruppo *Sham* si è evidenziato alcun effetto significativo. L'effetto principale Sessione non ha avuto una significatività statistica, $F(1,16) = 2.94$, $p = .106$, e l'interazione a due vie Sessione X Blocco non è risultata statisticamente significativa, $F(1,16) = 0.518$, $p = .482$.

Complessivamente i risultati dimostrano che la componente N450 mantiene una stabilità nel conflitto cognitivo indipendentemente dalla stimolazione, mentre la componente P2a appare statisticamente significativa dopo la stimolazione tACS per i soggetti *Active*.

7.4 Analisi Pre e Post Stimolazione tACS sui Livelli di Ansia di Stato (STAI-S)

È stata analizzata la variazione dei punteggi allo State-Trait Anxiety Inventory nella componente di Stato (STAI-S) tra la sessione pre e post stimolazione tACS. Sono stati effettuati t-test per campioni appaiati separatamente tra i due gruppi (*Active e Sham*). I punteggi STAI-S tra i due gruppi (*Active e Sham*) nella sessione pre-trattamento, effettuati mediante t-test per campioni indipendenti, sono assai simili tra loro ($p = .450$).

I risultati hanno evidenziato una riduzione significativa dei punteggi STAI-S nel gruppo *Active*, che ha avuto una media di $44,33 \pm 10,42$ nella sessione pre-trattamento a una media di $39,00 \pm 11,02$ nella sessione post-trattamento ($p = .014$). Il gruppo *Sham* non ha portato a variazioni significative tra la sessione pre ($43,90 \pm 10,86$) e la sessione post ($42,20 \pm 12,53$; $p = .270$).

Capitolo 8 – Discussione

Il presente studio è nato con l'intenzione di investigare i correlati comportamentali e neurofisiologici dell'ansia subclinica e dei potenziali effetti della neurostimolazione con tACS sul controllo cognitivo in presenza di distrattori emozionali tramite un Affective Flanker Task (AFT). Sono state condotte tre diverse analisi dati, la prima ha indagato l'interazione comportamentale tra livelli di ansia e la performance nell'AFT, la seconda ha indagato differenze neurofisiologiche misurando i potenziali evento-relati (ERP) tra gruppi con diversi livelli di ansia alla *baseline*, l'ultima ha valutato gli effetti della stimolazione ripetuta con tACS sui correlati comportamentali e neurofisiologici del conflitto cognitivo e sui livelli di ansia. I risultati ottenuti supportano parzialmente le ipotesi formulate all'inizio dello studio.

I risultati comportamentali hanno rilevato che l'ipotesi secondo cui i soggetti *Moderate Anxiety* e *High Anxiety* avrebbero mostrato una prestazione differente rispetto ai soggetti *Low Anxiety*, ha trovato conferma nelle analisi per l'accuratezza e per l'Inverse Efficiency Score (IES). Infatti, entrambe le misure hanno riportato un effetto statisticamente significativo nell'interazione a due vie tra Gruppo e Congruenza, in particolare tra i gruppi *High Anxiety* e *Low Anxiety*, e tra *Low Anxiety* e *Moderate Anxiety*, ma con una tendenza alla significatività tra i gruppi *High Anxiety* e *Moderate Anxiety*. Questo potrebbe suggerire che il livello di ansia abbia un impatto e moduli il conflitto cognitivo sulla performance comportamentale nel task specificamente sull'accuratezza, evidenziando una gestione differente del conflitto in base al livello di ansia di tratto del soggetto. Questi risultati si allineano con la letteratura dimostrando come l'ansia di tratto moduli l'accuratezza nel risolvere conflitto, come in questo caso (Derakshan & Eysenck, 2009).

Per quanto riguarda i risultati sull'accuratezza, le differenze significative viste tra tutti e tre i gruppi sottolineano come i soggetti MA e HA rispondano in modo differente alle condizioni congruenti e a quelle incongruenti rispetto al gruppo LA. Anche questo risultato è coerente con quello pubblicato in letteratura, dove viene descritta l'ansia come un fattore che influenza i processi attentivi e i meccanismi di controllo esecutivo, sottolineando così una maggiore sensibilità agli stimoli target del compito e alle condizioni di conflitto cognitivo (Eysenck & Calvo, 1992). L'analisi utilizzando l'IES rafforza ulteriormente questa interpretazione, fornendo una misura più completa dell'efficienza prestazionale, suggerendo che i soggetti con livelli d'ansia moderata e alta mostrino una gestione del conflitto cognitivo meno efficiente rispetto ai soggetti a bassa ansia, che risulta in una maggiore accuratezza, ma al costo di investire più risorse attentive al fine di mantenere la performance.

I tempi di reazione non hanno evidenziato nessun risultato statisticamente significativo tra i gruppi, diversamente da quanto ipotizzato. Tuttavia, è emersa una tendenza alla significatività nell'interazione a due vie tra Gruppo e Congruenza, in cui i soggetti MA e HA avrebbero tempi di reazione più lenti rispetto ai LA. Dunque, è possibile che le differenze tra i gruppi si manifestino e vengano influenzate principalmente nell'accuratezza e non nei tempi di reazione. Inoltre, le differenze associate all'ansia emergono in particolar modo nelle condizioni che richiedono maggior controllo cognitivo, ovvero nel fattore Congruenza. Infatti, l'effetto dell'ansia non si manifesta in maniera omogenea e generalizzata durante l'intero compito, ma si evidenzia nelle situazioni incongruenti, caratterizzate da interferenze e conflitto di informazioni concorrenti. Ad esempio: quando i *flanker* laterali sono opposti a quello centrale. Questa evidenza risulta coerente con i principali modelli teorici dell'ansia, secondo cui soggetti con elevata sintomatologia ansiosa allocano in maniera differente le risorse attentive, che risulta in una maggiore reattività ai processi di monitoraggio del conflitto. Ad esempio, nel

Dual Mechanism of Control Schmid et al., (2015) hanno dimostrato come l'ansia danneggi il controllo anticipatorio ma attivi in modo esagerato il controllo retroattivo, che sollecita la risposta al monitoraggio del conflitto.

Un secondo obiettivo riguardava l'ipotesi relativa alla presenza di un maggiore *attentional bias* nei gruppi *Moderate e High Anxiety*, in particolare nel blocco a valenza ansiosa dell'AFT. Sebbene questa ipotesi non sia stata suffragata dagli effetti comportamentali, l'ipotesi è stata confermata successivamente nelle analisi neurofisiologiche. Analogamente, non sono emerse evidenze dirette che confermino una relazione significativa tra punteggi ottenuti ai questionari psicometrici e la sensibilità all'ansia nelle condizioni incongruenti.

I risultati ottenuti dai dati comportamentali sembrano indicare che l'ansia di tratto rappresenti un fattore rilevante nella prestazione di compiti che richiedono il controllo dell'interferenza cognitiva. Infatti, le differenze osservate tra i livelli di accuratezza e l'efficienza della performance suggeriscono che ci sia un funzionamento differente tra i diversi livelli sintomatologici, in particolare nelle condizioni con maggiore conflitto cognitivo. Questo si allinea perfettamente con quanto già riportato in letteratura sui bias attentivi, dove individui con elevata ansia tendono ad allocare automaticamente maggiori risorse attentive alle informazioni minacciose, incongruenti, senza avere un impatto sulla qualità della performance (Eysenck et al., 2007).

Per quanto riguarda gli indici neurofisiologici alla *baseline*, uno dei risultati più rilevanti riportati riguarda la componente N450 registrata dall'elettrodo Cz. L'analisi basata sulla classificazione della sintomatologia tramite lo STAI-T, ha evidenziato un effetto della congruenza e un'interazione significativa a due vie tra Congruenza e Gruppi nel confronto tra

soggetti HA e LA. Analogamente quest'interazione è risultata significativa anche nella classificazione basata sullo STAI-S. Dunque, questi risultati supportano l'ipotesi secondo cui i partecipanti con livelli elevati di ansia, MA e HA, elaborano il conflitto cognitivo in modo differente rispetto i soggetti meno ansiosi. La N450 è una componente ERPs che tradizionalmente viene associata ad un indice del monitoraggio del conflitto mediante l'attivazione della corteccia cingolata anteriore (ACC) (Szűcs & Soltész, 2012). Per di più questi risultati sono coerenti con la letteratura, dove è stato dimostrato che elevati livelli di ansia possono alterare i processi di controllo cognitivo e di conflitto, ad esempio uno studio di Dennis e Chen (2009) ha trovato che individui ad alta ansia di tratto hanno una differente modulazione delle componenti ERP associate al conflitto quando presentati con stimoli minacciosi. Questa differenza viene accentuata nel confronto con i due gruppi più estremi LA e HA, sottolineando come la sensibilità della N450 possa risultare marcata nei due livelli più estremi.

La seconda componente ERP analizzata è stata la P2a (Early Anterior Positivity), che ha confermato le nostre ipotesi. L'EAP ha portato ad un'interazione significativa a due vie tra Congruenza e Gruppo, osservata con la classificazione STAI-T, suggerendo che i soggetti con elevati livelli di ansia elaborino gli stimoli in modo differente e che richiedano maggiori risorse attentive. La letteratura associa l'aumento di voltaggio della P2a ad una maggiore sensibilità agli stimoli emotivamente salienti, particolarmente di natura minacciosa. Infatti, l'ampiezza di questa componente frontale aumenta significativamente nei soggetti ansiosi esposti a stimoli minacciosi (Bar-Haim et al., 2005; Taake et al., 2009).

Un aspetto che si è rilevato interessante riguarda la differenza osservata tra STAI-T e STAI-S nell'analisi di questa componente, dove una diversa classificazione non ha evidenziato effetti

significativi altrettanto robusti. Questo potrebbe significare che differenze individuali, misurate con lo STAI-T, possano rappresentare un fattore predittivo dei processi attentivi precoci rispetto alle fluttuazioni momentanee di uno stato emotivo.

Un risultato analogo emerso nello studio riguarda la differenza tra ansia di stato e ansia di tratto. Infatti, come fatto notare precedentemente, le due classificazioni hanno riportato per le stesse analisi risultati diversi, sottolineando come l'ansia di tratto rappresenti una caratteristica rilevante e stabile che influenza sia la prestazione comportamentale sia l'attivazione neurofisiologica. Per questo motivo le ipotesi dello studio sono formulate sulla base dell'ansia di tratto. Mentre l'ansia di stato sembra riflettere variazioni momentanee relative allo stato emozionale della persona nel contesto sperimentale. Infatti, per entrambe le componenti ERPs le analisi sono risultate diverse se non opposte tra lo STAI-T e lo STAI-S.

Coerentemente con le ipotesi formulate, la tACS ha mostrato effetti significativi per il gruppo *Active* nella sintomatologia ansiogena. In particolare, i soggetti nel gruppo *Active* hanno mostrato una riduzione significativa dei punteggi STAI-S tra le analisi pre e post-stimolazione, mentre il gruppo *Sham* non ha riportato nessun effetto significativo alla stimolazione. Considerando le similarità iniziale, ai punteggi STAI-S tra i due gruppi, questo risultato suggerisce un possibile effetto della stimolazione sulla sintomatologia ansiosa soggettiva. Inoltre, la riduzione dei punteggi STAI-S risulta coerente con la riduzione della componente P2a nel gruppo *Active* post-stimolazione, sottolineando un'ulteriore influenza del trattamento sia alla percezione soggettiva dell'ansia, sia ai processi attentivi precoci coinvolti nell'elaborazione emotiva.

L'obiettivo finale dello studio era quello di valutare la capacità neuromodulativa della tACS nei processi cognitivi ed emotivi associati all'ansia. Per la componente P2a ha mostrato delle evidenze nel gruppo *Active*; infatti, è stata osservata un'interazione statisticamente significativa tra Sessione e Blocco, caratterizzata da una riduzione della risposta EAP nel blocco ansiosi post-stimolazione. Come predetto questo effetto non è stato osservato nella stimolazione *Sham*, dove i soggetti non hanno ricevuto la modulazione. Dunque, questi dati supportano l'ipotesi relativa alla diminuzione della componente P2a dopo la stimolazione attiva e suggeriscono che la tACS abbia effettivamente neuromodulato, modificato selettivamente, l'elaborazione dagli stimoli minacciosi. In conclusione, potremmo dedurre che è avvenuta una riduzione del bias attentivo verso gli stimoli di minaccia. Questa interpretazione dei dati risulta coerente con gli studi di stimolazione con tDCS e tACS in corteccia prefrontale dorsolaterale di sinistra che hanno riportato una riduzione dei bias attentivi e interpretativi nei partecipanti con elevata Ansia di Tratto con una diagnosi di ansia generalizzata (Ironside et al., 2015; Nejati et al., 2021).

Al contrario la componente N450 non ha mostrato nessuna neuromodulazione significativa post-stimolazione, andando dunque a negare quanto ipotizzato. L'effetto principale della congruenza è rimasto statisticamente significativo pre e post-stimolazione, ma non è emersa nessuna interazione significativa a tre vie tra Sessione, Congruenza e Gruppo. Questo suggerisce che la N450 potrebbe rappresentare un indicatore stabile dei meccanismi di monitoraggio del conflitto cognitivo, riflettendo caratteristiche neurocognitive più stabili dell'individuo piuttosto che un marker sensibile alla modificazione di una stimolazione tACS.

Nel complesso, i risultati indicano che l'ansia subclinica influenzi significativamente i processi di controllo cognitivo e i meccanismi attentivi verso stimoli emotivamente salienti. Le evidenze

comportamentali e neurofisiologiche concordano nel suggerire che i soggetti con elevati tratti ansiogeni mostrino una maggiore sensibilità alle condizioni di conflitto cognitivo e agli stimoli minacciosi.

8.1 Limiti e Studi Futuri

Lo studio presenta alcuni limiti, primo tra questi riguarda la numerosità campionaria. Nonostante il campione complessivo abbia portato a dei risulti concreti degli effetti principali, la suddivisione dei partecipanti nei tre livelli di ansia e successivamente nei gruppi del trattamento ha portato ad una riduzione della potenza statistica delle analisi. Dunque, per avere effetti più consistenti riguardo la differenza tra i gruppi sarebbe opportuno aumentare il campione, così facendo aumenterebbero i soggetti per gruppo. Questo aumento potrebbe avere un impatto nei risultati prossimi alla significatività, come quelli osservati nelle interazioni relative alla componente N450. In studi futuri sarebbe opportuno considerare il possibile ruolo di variabili demografiche, quali l'età e una suddivisione basata sul sesso dei partecipanti, questo aumenterebbe il range campionario. Nel nostro studio questo non è stato possibile, in quanto la rosa di partecipanti era particolarmente omogenea, tutti giovani adulti, studenti dell'Università degli Studi di Padova, con un campione di partecipanti maschi complessivo ($n=9$) e femmine ($n=60$). Il campione è stato poi reso ancora più uniforme nell'esclusione di partecipanti con performance inferiore al 60% nel task. Dunque, è possibile che l'esclusione di partecipanti con performance bassa possa aver attenuato l'effetto statistico complessivo della stimolazione. Infatti, Živanović et al., (2026) ha riportato che soggetti con una performance iniziale bassa traggono più beneficio dalla neuromodulazione, a differenza di partecipanti che partono già ad un livello alto, che vanno incontro ad un effetto soffitto.

Dal punto di vista sperimentale un ulteriore limite riguarda la natura subclinica del campione. I partecipanti che hanno preso parte allo studio presentavano livelli sintomatologici

differenti di ansia di tratto, senza avere una diagnosi di disturbo d'ansia. Sebbene questa scelta sia stata fatta consapevolmente, consentendo di investigare le variazioni dell'ansia in una popolazione sana, questo limita la generabilità dei risultati in popolazioni cliniche. Futuri studi potrebbero estendere questo protocollo a soggetti con diagnosi di Disturbo d'Ansia Generalizzato, o ad altri disturbi correlati, con lo scopo di verificare la sovrapponibilità dei meccanismi osservati e confrontare la popolazione sana con quella clinica per sottolineare le differenze di elaborazione cognitiva e i risultati della stimolazione.

Un ulteriore elemento riguarda la distinzione tra ansia di tratto e ansia di stato. Sebbene i risultati abbiano mostrato una corrispondenza tra le due classificazioni per i livelli estremi della distribuzione, i partecipanti appartenenti alla fascia *Moderate Anxiety* hanno dimostrato una maggiore variabilità tra i due tipi di ansia. Suggerendo che queste dimensioni, sebbene correlate, riflettano dei processi parzialmente diversi. Sarebbe interessante in futuri studi un approfondimento di questo paragone soprattutto dopo aver condotto una stimolazione. Ulteriormente questo aspetto potrebbe essere approfondito se si includessero altri componenti ERP in quanto potrebbero consentire una caratterizzazione più completa delle diverse fasi di elaborazione cognitiva e fornire una spiegazione per cui le due componenti dello STAI-Y siano differenti tra loro nelle analisi.

Un aspetto importante da sottolineare nel nostro studio riguarda la condizione *sham*, assegnata in modo randomizzato, ai partecipanti con profilo d'ansia moderato e alto, per controllare l'effetto 'placebo' dell'aspettativa legata alla stimolazione. Entrambi i gruppi potrebbero avere delle aspettative riguardo la stimolazione, portando ad una riduzione dei suoi effetti. Questo comporterebbe che le differenze dei due gruppi siano attribuite non solo alla stimolazione che promuove il potenziamento a lungo termine, ma anche alle aspettative riposte sulla stimolazione, causate dall'effetto placebo. Uno studio futuro potrebbe utilizzare un metodo *cross-over*, dove i due gruppi riceverebbero sia la condizione *sham* che quella *active*

con un periodo di *washout*, un intervallo di tempo tra la prima e la seconda settimana per eliminare i residui della stimolazione e iniziare la seconda settimana in una condizione psicofisica neutra evitando il *carry-over effect*. Questa modalità di studio andrebbe a bilanciare l'effetto legato al placebo, in quanto il momento in cui si riceve il trattamento verrebbe distribuito equamente e andrebbe a neutralizzare l'effetto indesiderato nelle analisi statistiche. Inoltre, in quanto le procedure del *set-up* fisico per entrambe le settimane sarebbero identiche il partecipante non avrebbe modo di capire quale stimolazione stesse ricevendo, rendendo l'aspettativa psicologica di miglioramento costante per entrambe le settimane, dunque permettendo di isolare esclusivamente il reale effetto neurofisiologico.

Un'ulteriore prospettiva di ricerca riguarda l'identificazione di biomarcatori neurofisiologici dell'ansia. I nostri risultati ci suggeriscono interpretazioni differenti per le nostre componenti neurofisiologiche. La N450 rappresenterebbe un indice più stabile basato sulle differenze individuali associate all'ansia di tratto, mentre la P2a è più sensibile e riflettere le variazioni dello stato ansiosi e dell'attention bias verso gli stimoli di minaccia. Questa distinzione tra le due componenti risulta interessante, in quanto sarebbe promettente vedere la distinzione tra componenti transitorie dell'ansia rispetto a quelle disposizionali, questo potrebbe anche spiegare la differenza tra STAI-T e STAI-S.

Per di più, durante lo svolgimento della sperimentazione è sorto un limite legato alla durata sperimentale e al montaggio delle cuffie di registrazione EEG. I partecipanti hanno riportato, specialmente il primo e l'ultimo giorno, un montaggio e una sessione troppo lunga e stancante. Infatti, alla fine del primo giorno di registrazione la maggioranza dei soggetti ha chiesto se sarebbe stato un processo così lungo ogni giorno di sperimentazione, in quanto è stato evidenziato come la cuffia EEG inglobata alla cuffia della functional Near-Infrared Spectroscopy (fNIRS) fosse estremamente pesante e causasse dolore dopo 50 minuti di task, il che ha portato a distrazione e per un partecipante il ritiro. Inoltre, il montaggio per questi due

giorni risultava estremamente lungo, il quale aggiungeva alla sessione di sperimentazione arrivando a quasi due ore, portando a fenomeni di sonnolenza. Purtroppo, la durata di questo set-up è stato necessario in quanto il montaggio e la calibrazione dell'fNIRS, tecnica non incorporata in questa tesi, ha delle tempistiche lunghe che di conseguenza hanno allungato queste sessioni. In futuro si potrebbero utilizzare altre tecniche al posto della fNIRS per misurare le variazioni di concentrazione dell'ossi- e della desossiemoglobina, associate all'attivazione cerebrale, come una risonanza magnetica funzionale (fMRI). Quest'ultima già utilizzata in diversi studi, come quello di Mohanty et al., (2005) impiega l'fMRI per mappare i meccanismi dello Stroop emotivo durante l'elaborazione di stimoli negativi.

Un ulteriore limite sperimentale trovate, vede l'utilizzo dell'Affective Flanker task. Sebbene questo compito sia utilizzato spesso per valutare il conflitto cognitivo, il task potrebbe essere stato troppo semplice per il campione esaminato. Questo aspetto potrebbe aver portato ad un effetto soffitto, evidenziando dei livelli estremamente elevati di accuratezza soprattutto nelle sessioni finali dove i partecipanti erano abituati a completare questo task. Il problema in questo caso vede una riduzione della sensibilità del compito per trovare differenze interindividuali, variazioni indotte dal trattamento o può indurre a una minimizzazione delle differenze comportamentali tra gruppi. Inoltre, il disegno sperimentale prevedeva la ripetizione del medesimo task che poteva risultare in un effetto pratica, questo potrebbe aver contribuito a ridurre la variabilità comportamentale e di conseguenza la capacità statistica di rilevare differenze significative tra le condizioni sperimentali. Studi futuri potrebbero aggirare questo limite aumentando la difficoltà del compito ogni volta che i partecipanti si sottoponevano a un nuovo giorno di stimolazione, ad esempio aumentando il numero di distrattori.

Infine, studi futuri potrebbero approfondire l'effetto di abituazione alla stimolazione, cambiando i parametri per renderla più efficace anche nelle performance in cui c'è troppa familiarizzazione al task. Infatti, una situazione analoga è stata vista nel gruppo *Active*, che è

stato caratterizzato da questo effetto di abituazione, che il gruppo *Sham* non ha avuto in quanto la sua stimolazione è stata troppo breve per portare ad una abituazione. Per ovviare a questo inconveniente alcuni studi utilizzano una stimolazione personalizzata per ogni soggetto sperimentale. Ad esempio, lo studio di Stecher & Herrmann (2018) in cui gli autori hanno sviluppato un approccio tACS personalizzato e guidato dall'EEG online, dove i parametri di stimolazione variano in base alle oscillazioni neurali del partecipante, per evitare questo problema di adattamento e abituazione che causa una perdita d'efficacia della stimolazione.

L'obiettivo finale per questa ricerca è quello di continuare ad approfondire i meccanismi neurocognitivi che stanno alla base della relazione tra ansia, attenzione e controllo cognitivo, per comprendere meglio i processi coinvolti nell'elaborazione della minaccia e degli stimoli salienti. Inoltre, i nostri risultati riportano il potenziale delle tecniche di neuromodulazione non invasiva, di cui sarà importante proseguire la ricerca, per approfondire i meccanismi d'azione e la valutazione della sua efficacia ampliandola a partecipanti clinici.

Bibliografía

- Akiki, T. J., Jubeir, J., Bertrand, C., et al. (2025). Neural circuit basis of pathological anxiety. *Nature Reviews Neuroscience*, 26, 5–22. <https://doi.org/10.1038/s41583-024-00880-4>
- Alguacil, S., Tudela, P., & Ruz, M. (2013). Cognitive and affective control in a flanker word task: Common and dissociable brain mechanisms. *Neuropsychologia*, 51(9), 1663–1672. <https://doi.org/10.1016/j.neuropsychologia.2013.05.020>
- American Psychiatric Association. (2013). *Diagnostic and statistical manual of mental disorders* (5th ed.). Author.
- Antal, A., & Paulus, W. (2013). Transcranial alternating current stimulation (tACS). *Frontiers in Human Neuroscience*, 7, Article 317. <https://doi.org/10.3389/fnhum.2013.00317>
- Ariño-Braña, P., Zareba, M. R., Ibáñez Montolio, M., Visser, M., & Picó-Pérez, M. (2025). Influence of the HPA Axis on anxiety-related processes: An RDoC overview considering their neural correlates. *Current Psychiatry Reports*, 27(10), 593-611. <https://doi.org/10.1007/s11920-025-01633-5>
- Bar-Haim, Y., Lamy, D., & Glickman, S. (2005). Attentional bias in anxiety: A behavioral and ERP study. *Brain and Cognition*, 59(1), 11–22. <https://doi.org/10.1016/j.bandc.2005.03.005>
- Barlow, D. H. (2002). *Anxiety and its disorders: The nature and treatment of anxiety and panic* (2nd ed.). Guilford Press.
- Beck, A. T., & Steer, R. A. (1987). *Beck Depression Inventory Manual*. Psychological Corporation.
- Beck, A. T., Clark, DA. (1997). An information processing model of anxiety: automatic and strategic processes. *Behaviour Research and Therapy*, 35(1), 49-58. [https://doi.org/10.1016/s0005-7967\(96\)00069-1](https://doi.org/10.1016/s0005-7967(96)00069-1)

- Beck, A. T., Emery, G., & Greenberg, R. L. (1985). *Anxiety disorders and phobias: A cognitive perspective*. Basic Books.
- Beck, A. T., Steer, R. A., & Brown, G. K. (1996). *Manual for the Beck Depression Inventory-II*. Psychological Corporation.
- Beck, A. T., Steer, R. A., & Garbin, M. G. (1988). Psychometric properties of the Beck Depression Inventory: Twenty-five years of evaluation. *Clinical Psychology Review*, 8(1), 77-100. [https://doi.org/10.1016/0272-7358\(88\)90050-5](https://doi.org/10.1016/0272-7358(88)90050-5)
- Beck, A. T., Ward, C. H., Mendelson, M., Mock, J., & Erbaugh, J. (1961). An inventory for measuring depression. *Archives of General Psychiatry*, 4(6), 561–571. <https://doi.org/10.1001/archpsyc.1961.01710120031004>
- Cavanagh, J. F., Figueroa, C. M., Cohen, M. X., & Frank, M. J. (2012). Frontal theta reflects uncertainty and unexpectedness during exploration and exploitation. *Cerebral Cortex*, 22(11), 2575–2586. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhr332>
- Chen, Y., Gao, B., & You, Y. (2024). Transcranial Alternating Current Stimulation: A Novel Neuromodulatory Treatment for Anxiety and Related Disorders. *ACS Chemical Neuroscience*, 15(21), 3794–3796. <https://doi.org/10.1021/acscchemneuro.4c00642>
- Cisler, J. M., & Koster, E. H. W. (2010). Mechanisms of attentional biases towards threat in anxiety disorders: An integrative review. *Clinical Psychology Review*, 30(2), 203–216. <https://doi.org/10.1016/j.cpr.2009.11.003>
- Clark, D. A., & Beck, A. T. (2010). Cognitive theory and therapy of anxiety and depression: convergence with neurobiological findings. *Trends in Cognitive Sciences*, 14(9), 418-424. <https://doi.org/10.1016/j.tics.2010.06.007>
- Craske, M. G., & Stein, M. B. (2016). Anxiety. *The Lancet*, 388(10063), 3048–3059. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)30381-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)30381-6)

Dennis, T. A., & Chen, C. C. (2009). Trait anxiety and conflict monitoring following threat: an ERP study. *Psychophysiology*, 46(1), 122–131. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8986.2008.00758.x>

Derakshan, N., & Eysenck, M. W. (2009). Anxiety, processing efficiency, and cognitive performance: New developments from attentional control theory. *European Psychologist*, 14(2), 168-176. <https://doi.org/10.1027/1016-9040.14.2.168>

Dunlavey, C. J. (2018). Introduction to the Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis: Healthy and dysregulated stress responses, developmental stress and neurodegeneration. *Journal of Undergraduate Neuroscience Education*, 16(2), R59-R60.

Eriksen, B. A., & Eriksen, C. W. (1974). Effects of noise letters upon the identification of a target letter in a nonsearch task. *Perception & Psychophysics*, 16(1), 143–149. <https://doi.org/10.3758/BF03203267>

Etkin, A. (2010). Functional neuroanatomy of anxiety: A neural circuit perspective. In M. D. Lewis, K. D. Rudolph, & L. M. Gotlib (Eds.), *Current topics in behavioral neurosciences* (Vol. 2, pp. 251–277). Springer. https://doi.org/10.1007/7854_2009_5

Etkin, A., & Wager, T. D. (2007). Functional neuroimaging of anxiety: a meta-analysis of emotional processing in PTSD, social anxiety disorder, and specific phobia. *American Journal of Psychiatry*, 164(10), 1476–1488. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2007.07030504>

Eysenck, M. W., & Calvo, M. G. (1992). Anxiety and Performance: The Processing Efficiency Theory. *Cognition and Emotion*, 6(6), 409–434. <https://doi.org/10.1080/02699939208409696>

Eysenck, M. W., Derakshan, N., Santos, R., & Calvo, M. G. (2007). Anxiety and cognitive performance: attentional control theory. *Emotion*, 7(2), 336-353. <https://doi.org/10.1037/1528-3542.7.2.336>

Feroz, F. S., Subramaniam, S. K., Mat Ali, M. H., Ismail, A. I., Subramaniam, I. D., & Salman, A. R. (2021). Attentional bias during public speaking anxiety revealed using event-related potentials. *Indonesian Journal of Electrical Engineering and Computer Science*, 24(1), 253–259. <http://doi.org/10.11591/ijeecs.v24.i1.pp253-259>

Ghasemi, M., Navidhamidi, M., Rezaei, F., et al. (2022). Anxiety and hippocampal neuronal activity: Relationship and potential mechanisms. *Cognitive, Affective, & Behavioral Neuroscience*, 22, 431–449. <https://doi.org/10.3758/s13415-021-00973-y>

Herrmann, C. S., Rach, S., Neuling, T., & Strüber, D. (2013). Transcranial alternating current stimulation: A review of the underlying mechanisms and modulation of cognitive processes. *Frontiers in Human Neuroscience*, 7, Article 279. <https://doi.org/10.3389/fnhum.2013.00279>

Herrmann, C. S., Strüber, D., Helfrich, R. F., & Engel, A. K. (2016). EEG oscillations: From correlation to causality. *International Journal of Psychophysiology*, 103, 12–21. <https://doi.org/10.1016/j.ijpsycho.2015.02.003>

Jacobs, D. S., & Moghaddam, B. (2021). Medial prefrontal cortex encoding of stress and anxiety. *International Review of Neurobiology*, 158, 29–55. <https://doi.org/10.1016/bs.irn.2020.11.014>

Julian, L. J. (2011). Measures of anxiety: State-Trait Anxiety Inventory (STAI), Beck Anxiety Inventory (BAI), and Hospital Anxiety and Depression Scale-Anxiety (HADS-A). *Arthritis Care & Research*, 63(Suppl 11), S467–S472. <https://doi.org/10.1002/acr.20561>

Kanske, P., & Kotz, S. A. (2011). Emotion triggers executive attention: anterior cingulate cortex and amygdala responses to emotional words in a conflict task. *Human Brain Mapping*, 32(2), 198–208. <https://doi.org/10.1002/hbm.21012>

- Kenwood, M. M., Kalin, N. H., & Barbas, H. (2022). The prefrontal cortex, pathological anxiety, and anxiety disorders. *Neuropsychopharmacology*, 47(1), 260-275.
<https://doi.org/10.1038/s41386-021-01109-z>
- Kesikburun, S. (2022). Non-invasive brain stimulation in rehabilitation. *Turkish Journal of Physical Medicine and Rehabilitation*, 68(1), 1–8. <https://doi.org/10.5606/tftrd.2022.10608>
- Klumpp, H., & Shankman, S. A. (2018). Using Event-Related Potentials and Startle to Evaluate Time Course in Anxiety and Depression. *Biological Psychiatry: Cognitive Neuroscience and Neuroimaging*, 3(1), 10–18. <https://doi.org/10.1016/j.bpsc.2017.09.004>
- LeDoux, J. E. (2000). Emotion circuits in the brain. *Annual Review of Neuroscience*, 23, 155–184. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.23.1.155>
- Lee, T. W., & Tramontano, G. (2024). Connectivity changes following transcranial alternating current stimulation at 5-Hz: an EEG study. *AIMS Neuroscience*, 11(4), 439–448.
<https://doi.org/10.3934/Neuroscience.2024026>
- Liu, S., He, Y., Guo, D., Liu, X., Hao, X., Hu, P., & Ming, D. (2023). Transcranial alternating current stimulation ameliorates emotional attention through neural oscillations modulation. *Cognitive Neurodynamics*, 17(6), 1473–1483. <https://doi.org/10.1007/s11571-022-09880-5>
- Ma, J., Liu, C., Zhong, X., Wang, L., & Chen, X. (2014). Emotional body-word conflict evokes enhanced N450 and slow potential. *PLoS ONE*, 9(5), e95198.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0095198>
- Michel, C. M., Murray, M. M., Lantz, G., Gonzalez, S., Spinelli, L., & Grave de Peralta, R. (2004). EEG source imaging. *Clinical Neurophysiology*, 115(10), 2195–2222.
<https://doi.org/10.1016/j.clinph.2004.06.001>

Mohanty, A., Herrington, J. D., Koven, N. S., Fisher, J. E., Wenzel, E. A., Webb, A. G.,

Heller, W., Banich, M. T., & Miller, G. A. (2005). Neural Mechanisms of Affective

Interference in Schizotypy. *Journal of Abnormal Psychology*, 114(1), 16–27.

<https://doi.org/10.1037/0021-843X.114.1.16>

Mueller, C. J., & Kuchinke, L. (2016). Processing of face identity in the affective flanker

task: a diffusion model analysis. *Psychological Research*, 80(6), 963–973.

<https://doi.org/10.1007/s00426-015-0696-3>

Nejati, V., Khalaji, S., Goodarzi, H., & Nitsche, M. (2021). The role of ventromedial and

dorsolateral prefrontal cortex in attention and interpretation biases in individuals with general

anxiety disorder (GAD): A tDCS study. *Journal of Psychiatric Research*, 144, 269–277.

<https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2021.10.034>

Ng, I. K. S., Teo, K. S. H., Goh, W. G. W., Thong, C., Teo, D. B., & Tan, L. F. (2026).

Cognitive dissonance in the hidden curriculum of medicine. *Internal Medicine Journal*, 56(3),

486–489. <https://doi.org/10.1111/imj.70298>

Nunez, P. L., & Srinivasan, R. (2006). Electric fields of the brain: The neurophysics of EEG

(2nd ed.). Oxford University Press.

Ohman, A., Mineka, S. (2001). Fears, phobias, and preparedness: toward an evolved module

of fear and fear learning. *Psychological Review*, 108(3), 483-522.

<https://doi.org/10.1037/0033-295x.108.3.483>

Okon-Singer, H. (2018). The role of attention bias to threat in anxiety: Mechanisms,

modulators and open questions. *Current Opinion in Behavioral Sciences*, 19, 26–30.

<https://doi.org/10.1016/j.cobeha.2017.09.008>

- Olatunji, B. O., Wolitzky-Taylor, K. B., Sawchuk, C. N., & Ciesielski, B. G. (2010). Worry and the anxiety disorders: A meta-analytic synthesis of specificity to GAD. *Applied and Preventive Psychology*, 14(1–4), 57–77. <https://doi.org/10.1016/j.appsy.2009.10.002>
- Olofsson, J. K., Nordin, S., Sequeira, H., & Polich, J. (2008). Affective picture processing: an integrative review of ERP findings. *Biological Psychology*, 77(3), 247–265. <https://doi.org/10.1016/j.biopsycho.2007.11.006>
- Petrocchi, N., Tenore, K., Couyoumdjian, A., & Gragnani, A. (2014). The Anxiety Sensitivity Index-3: Factor structure and psychometric properties in Italian clinical and non-clinical samples. *Bollettino di Psicologia Applicata*, 269, 53–64.
- Polanía, R., Nitsche, M. A., & Ruff, C. C. (2018). Studying and modifying brain function with non-invasive brain stimulation. *Nature Neuroscience*, 21(2), 174–187. <https://doi.org/10.1038/s41593-017-0054-4>
- Posner, M. I., & Fan, J. (2008). Attention as an organ system. In J. R. Pomerantz (Ed.), *Topics in Integrative Neuroscience: From Cells to Cognition* (pp. 31–61). Cambridge University Press.
- Reiss, S. (1991). Expectancy theory of fear, anxiety, and panic. *Clinical Psychology Review*, 11(2), 141–153. [https://doi.org/10.1016/0272-7358\(91\)90092-9](https://doi.org/10.1016/0272-7358(91)90092-9)
- Reiss, S., & McNally, R. J. (1985). The expectancy model of fear. In S. Reiss & R. R. Bootzin (Eds.), *Theoretical issues in behavior therapy* (pp. 107–121). Academic Press.
- Reiss, S., Peterson, R. A., Gursky, D. M., & McNally, R. J. (1986). Anxiety sensitivity, anxiety frequency and the prediction of fearfulness. *Behaviour Research and Therapy*, 24(1), 1–8. [https://doi.org/10.1016/0005-7967\(86\)90143-9](https://doi.org/10.1016/0005-7967(86)90143-9)
- Rey-Mermet, A., Gade, M., & Steinhauser, M. (2019). Sequential conflict resolution under multiple concurrent conflicts: An ERP study. *NeuroImage*, 188, 411–418. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2018.12.031>

Rosato, M., Sala, M., Coccaro, A., Cutini, S., & Liotti, M. (2025). Repetitive Gamma-tACS improves the reaction times of healthy young adults in a visuospatial working memory task: A randomized study. *Brain Sciences*, 15(4), 343. <https://doi.org/10.3390/brainsci15040343>

Scarpina, F., & Tagini, S. (2017). The Stroop Color and Word Test. *Frontiers in Psychology*, 8, Article 557. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2017.00557>

Schmid, P. C., Kleiman, T., & Amodio, D. M. (2015). Neural mechanisms of proactive and reactive cognitive control in social anxiety. *Cortex*, 70, 137–145. <https://doi.org/10.1016/j.cortex.2015.05.030>

Seeley, W. W., Menon, V., Schatzberg, A. F., Keller, J., Glover, G. H., Kenna, H., Reiss, A. L., & Greicius, M. D. (2007). Dissociable intrinsic connectivity networks for salience processing and executive control. *The Journal of Neuroscience*, 27(9), 2349–2356. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5587-06.2007>

Shin, L. M., & Liberzon, I. (2010). The neurocircuitry of fear, stress, and anxiety disorders. *Neuropsychopharmacology*, 35(1), 169–191. <https://doi.org/10.1038/npp.2009.83>

Spielberger, C. D., Gorsuch, R. L., Lushene, R. E., Vagg, P. R., & Jacobs, G. A. (1983a). *Manual for the State-Trait Anxiety Inventory (Form Y)*. Consulting Psychologists Press.

Spielberger, C. D., Gorsuch, R. L., Lushene, R. E., Vagg, P. R., & Jacobs, G. A. (1983b). *State-Trait Anxiety Inventory for Adults (STAI-AD)* [Database record]. APA PsycTests. <https://doi.org/10.1037/t06496-000>

Starcevic, V. (2006). Cognitive specificity of anxiety disorders: a review of selected key constructs. *Depression and Anxiety*, 23(2), 51–61. <https://doi.org/10.1002/da.20145>

Stecher, H. I., & Herrmann, C. S. (2018). Absence of alpha-tACS aftereffects in darkness reveals importance of taking deviations of stimulation frequency and individual alpha variability into account. *Frontiers in Human Neuroscience*, 12, Article 530. <https://doi.org/10.3389/fnhum.2018.00530>

Stroop, J. R. (1935). Studies of interference in serial verbal reactions. *Journal of Experimental Psychology*, 18(6), 643–662. <https://doi.org/10.1037/h0054651>

Sylvester, C. M., Corbetta, M., Raichle, M. E., Rodebaugh, T. L., Schlaggar, B. L., Sheline, Y. I., Zorumski, C. F., & Lenze, E. J. (2012). Functional network dysfunction in anxiety and anxiety disorders. *Trends in Neurosciences*, 35(9), 527–535. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2012.04.012>

Szűcs, D., & Soltész, F. (2012). Functional definition of the N450 event-related brain potential marker of conflict processing: A numerical Stroop study. *BMC Neuroscience*, 13, Article 35. <https://doi.org/10.1186/1471-2202-13-35>

Taake, I., Jaspers-Fayer, F., & Liotti, M. (2009). Early frontal responses elicited by physical threat words in an emotional Stroop task: Modulation by anxiety sensitivity. *Biological Psychology*, 81(1), 48–57. <https://doi.org/10.1016/j.biopsycho.2009.01.006>

Taylor, S. (1995). Anxiety sensitivity: theoretical perspectives and recent findings. *Behaviour Research and Therapy*, 33(3), 243–258. [https://doi.org/10.1016/0005-7967\(94\)00063-p](https://doi.org/10.1016/0005-7967(94)00063-p)

Taylor, S. (Ed.). (1999). *Anxiety sensitivity: Theory, research, and treatment of the fear of anxiety*. Lawrence Erlbaum Associates Publishers.

Taylor, S., Zvolensky, M. J., Cox, B. J., Deacon, B., Heimberg, R. G., Ledley, D. R., Abramowitz, J. S., Holaway, R. M., Sandin, B., Stewart, S. H., Coles, M., Eng, W., Daly, E. S., Arrindell, W. A., Bouvard, M., & Cardenas, S. J. (2007). Robust dimensions of anxiety sensitivity: development and initial validation of the Anxiety Sensitivity Index-3. *Psychological Assessment*, 19(2), 176–188. <https://doi.org/10.1037/1040-3590.19.2.176>

Thomas, C. L., & Cassady, J. C. (2021). Validation of the State Version of the State-Trait Anxiety Inventory in a University Sample. *SAGE Open*, 11(3). <https://doi.org/10.1177/21582440211031900>

- Trujillo, N., Gómez, D., Trujillo, S., López, J. D., Ibáñez, A., & Parra, M. A. (2021). Attentional bias during emotional processing: Behavioral and electrophysiological evidence from an Emotional Flanker Task. *PLoS ONE*, 16(4), e0249407. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0249407>
- Tseng, Y. T., Schaefer, B., Wei, P., et al. (2023). Defensive responses: behaviour, the brain and the body. *Nature Reviews Neuroscience*, 24, 655–671. <https://doi.org/10.1038/s41583-023-00736-3>
- Valadez, E. A., Pine, D. S., Fox, N. A., & Bar-Haim, Y. (2022). Attentional biases in human anxiety. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 142, Article 104917. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2022.104917>
- Van Veen, V., & Carter, C. S. (2002). The anterior cingulate as a conflict monitor: fMRI and ERP studies. *Physiology & Behavior*, 77(4–5), 477–482. [https://doi.org/10.1016/S0031-9384\(02\)00930-7](https://doi.org/10.1016/S0031-9384(02)00930-7)
- Vossen, A., Gross, J., & Thut, G. (2015). Alpha power increase after transcranial alternating current stimulation at alpha frequency reflects plastic changes rather than entrainment. *Brain Stimulation*, 8(3), 499–508. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2014.12.004>
- Wikimedia Commons. (s.d.). International 10–20 system for EEG [Imagine]. Wikimedia Commons. https://commons.wikimedia.org/wiki/File:International_10-20_system_for_EEG-MCN.png
- Wischnewski, M., & Schutter, D. J. L. G. (2017). After-effects of transcranial alternating current stimulation on evoked delta and theta power. *Clinical Neurophysiology*, 128(11), 2227–2232. <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2017.08.029>
- Xue, Y., Wang, W. D., Liu, Y. J., Wang, J., & Walters, A. S. (2025). Sleep disturbances in generalized anxiety Disorder: The central role of insomnia. *Sleep Medicine*, 132, Article 106545. <https://doi.org/10.1016/j.sleep.2025.106545>

- Zhou, J., Li, D., Ye, F., Liu, R., Feng, Y., Feng, Z., Li, R., Li, X., Liu, J., Zhang, X., Zhou, J., & Wang, G. (2024). Effect of add-on transcranial alternating current stimulation (tACS) in major depressive disorder: A randomized controlled trial. *Brain Stimulation*, 17(4), 760–768. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2024.06.004>
- Živanović, M., Bjekić, J., Stanković, M., Vulić, K., Konstantinović, U., & Paunović, D. (2026). Baseline cognitive abilities shape the effects of tDCS, tACS, and otDCS on associative memory. *bioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/2026.01.01.234567> (Nota: link e DOI normalizzati per bioRxiv)
- Carolan, P. L., Jaspers-Fayer, F., Asmaro, D. T., Douglas, K. S., & Liotti, M. (2014). Electrophysiology of blunted emotional bias in psychopathic personality. *Psychophysiology*, 51(1), 36–41. <https://doi.org/10.1111/psyp.12145>
- Maffei, A., Goertzen, J., Jaspers-Fayer, F., Kleffner, K., & Sessa, P. (2021). Spatiotemporal dynamics of covert versus overt processing of happy, fearful and sad facial expressions. *Brain Sciences*, 11(7), 942.
- Liotti, M., Woldorff, M. G., Perez, R., & Mayberg, H. S. (2000). An ERP study of the temporal course of the Stroop color-word interference effect. *Neuropsychologia*, 38(5), 701–711. [https://doi.org/10.1016/S0028-3932\(99\)00106-2](https://doi.org/10.1016/S0028-3932(99)00106-2)
- West, R., & Alain, C. (2000). Effects of task context and fluctuations of attention on neural activity supporting performance of the Stroop task. *Brain Research*, 873(1), 102–111. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(00\)02530-0](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(00)02530-0)
- Markela-Lerenc, J., Ille, N., Kaiser, S., Fiedler, P., Mundt, C., & Weisbrod, M. (2004). Prefrontal-cingulate activation during executive control: Which comes first? *Cognitive Brain Research*, 18(3), 278–287. <https://doi.org/10.1016/j.cogbrainres.2003.10>

