

ALMA MATER STUDIORUM – UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

DOTTORATO DI RICERCA IN MEDICINA DEL SONNO
Ciclo XX

Settore scientifico disciplinare di afferenza: MED/26

SVILUPPO E IMPLEMENTAZIONE DI UNO STRUMENTO DI
RILEVAMENTO DEI MOVIMENTI OCULARI LENTI NELLA
TRANSIZIONE VEGLIA-SONNO

Presentata da: ANNA ZANIBONI

Coordinatore Dottorato

Relatore

Chiar.mo Prof.

Chiar.mo Prof.

PASQUALE MONTAGNA

PASQUALE MONTAGNA

Esame finale anno 2008

INDICE

INTRODUZIONE	3
ADDORMENTAMENTO	3
MOVIMENTI OCULARI LENTI DELL'ADDORMENTAMENTO	5
METODI DI MISURAZIONE DELLA SONNOLENZA	11
SCOPO DELLO STUDIO	17
MATERIALI E METODI	18
VALIDAZIONE DELLO STRUMENTO AUTOMATICO	18
APPLICAZIONE DELLO STRUMENTO A TRACCIATI DI PAZIENTI CON PATOLOGIA NEUROLOGICA	22
APPLICAZIONE DELLO STRUMENTO A TRACCIATI MSLT (TEST DI LATENZA MULTIPLA DEL SONNO)	24
RISULTATI	27
VALIDAZIONE DELLO STRUMENTO AUTOMATICO	27
APPLICAZIONE DELLO STRUMENTO A TRACCIATI DI PAZIENTI CON PATOLOGIA NEUROLOGICA	31
APPLICAZIONE DELLO STRUMENTO A TRACCIATI MSLT	34
DISCUSSIONE	36
BIBLIOGRAFIA	39
RINGRAZIAMENTI	43

1 - INTRODUZIONE

1.1 ADDORMENTAMENTO

La transizione veglia-sonno è molto difficile da definire perché non si tratta di un fenomeno on-off, di un momento preciso, ma di un processo.

L'addormentamento è questa fase di transizione tra la veglia e il sonno; è l'intervallo di tempo compreso tra il momento in cui un soggetto è predisposto a dormire e il momento in cui effettivamente dorme. Ma mentre la definizione di veglia e di sonno è relativamente semplice anche dal punto di vista operativo, definire l'addormentamento è molto più difficile perché si tratta di un processo in cui si alternano continuamente frammenti di veglia e di sonno, non c'è un "momento" di addormentamento ma un periodo (Ogilvie 2001) in cui numerose variabili – neurofisiologiche, comportamentali - oscillano, fino alla comparsa del sonno. Da questo punto di vista il termine italiano "dormiveglia" è il più adeguato a rappresentare tale processo. La difficoltà nel definire la transizione veglia-sonno deriva anche dall'adozione, nello studio dell'addormentamento, del Sistema Standard di Classificazione delle fasi di sonno di Rechtschaffen & Kales (1968), che utilizza gli stessi parametri (epoche di 30 secondi) per analizzare periodi così eterogenei (l'addormentamento che dura pochi minuti, e il sonno che dura diverse ore).

Tali limiti fanno sì che alcuni ricercatori identifichino l'addormentamento con la fase 1 o 2 di sonno, o addirittura non lo specifichino.

In definitiva, quando si parla di addormentamento si fa riferimento a condizioni fisiologiche e comportamentali eterogenee (Ogilvie 2001).

La propensione al sonno deriva dall'azione combinata di due fattori: una componente omeostatica monotonica (processo S) e una circadiana ritmica (processo C) (Cluydts et al, 2002). Il processo C facilita il sonno nelle ore notturne, quando la temperatura si abbassa, e determina maggiore o minore propensione al sonno durante la giornata. Il processo S si accumula in maniera esponenziale nell'arco della veglia, per scaricarsi durante il sonno, con la produzione di onde lente. La validazione di questo modello è stata fatta in numerosi studi (tra cui Akerstedt & Folkard, 1995).

Un terzo fattore, aggiunto a tale modello, è il processo W; l'inerzia del sonno, riscontrabile nelle prime ore dopo il risveglio, considerata un fattore che contribuisce significativamente alla sonnolenza.

Da un punto di vista anatomico e neuro-fisiologico diverse strutture e neuro-trasmittitori regolano il passaggio tra il sonno e la veglia.

L'alternanza tra questi due stati è regolata principalmente dall'ipotalamo anteriore (più precisamente il nucleo soprachiasmatico) che invia alla corteccia i suoi stimoli e costituisce una sorta di orologio biologico nella regolazione circadiana ed omeostatica di tale sistema.

Lungo l'asse che collega il tronco encefalico e il prosencefalo si trovano tre distinti generatori implicati nella fisiologia veglia-sonno.

- A livello telencefalico, il circuito talamo- limbico è il principale regolatore del sonno ad onde lente. Gli spindles, grafoelementi tipici della fase 2 di sonno, nascono nel nucleo reticolare del talamo e si diffondono alla corteccia frontale grazie anche alle sue numerose connessioni con il nucleo dorso-mediale (Steriade et al.,1997); dal nucleo dorso-mediale del talamo passano poi gli impulsi del nucleo reticolare diretti al giro del cingolo e alla corteccia fronto-orbitaria.

Durante la veglia si accumulano sostanze come adenosina, prostaglandine e alcune citochine che stimolano i neuroni GABA-ergici della regione preottica ventro-laterale. I neuroni GABA-ergici inibiscono quelli aminergici (inducenti la veglia), localizzati nel nucleo tubero-mammillare (neuroni istaminergici), nel nucleo dorsale del raphe (neuroni serotoninergici) e nel locus coeruleus (neuroni noradrenergici) (Saper et al.,2001).

- A livello rombencefalico la porzione laterodorsale del tegmento peduncolo-pontino contiene due sottopopolazioni neuronali: una inducente la veglia e l'altra inducente il sonno REM (cellule REM-on), entrambe attraverso fibre colinergiche.

- La formazione reticolare attivante ascendente che si estende dal midollo allungato fino alla corteccia basale frontale; è il principale induttore e regolatore della veglia. Tale stato è promosso ugualmente da un'inibizione dei neuroni GABA-ergici che induce l'attivazione di neuroni aminergici (Mc Ginty et al.,2000).

Gli studi di Neuroimmagine funzionale dell'addormentamento (stadio 1) mostrano un aumento del flusso ematico cerebrale nella corteccia occipitale extrastriata e una riduzione nelle aree frontali, talamiche e parietali (Kjaer et al, 2002), in relazione ad una riduzione delle capacità esecutive, e alla comparsa di un'intensa fase di immaginazione astratta. Risultati simili si ritrovano nei soggetti che attuano tecniche di meditazione e ipnosi (Maquet, 1999), con la differenza che negli ultimi si ritrova una deattivazione del precuneo, che riceve le informazioni sensitive e le convoglia verso i centri frontali; la sua deattivazione potrebbe sottendere una disconnessione tra le informazioni sensitive e le capacità esecutive durante l'ipnosi. L'attivazione delle aree corticali visive associative, con una deattivazione di quelle frontali esecutive si ritrova inoltre durante la fase REM, come se la fase 1 fosse una sorta di "fase dei sogni della veglia" mentre la REM fosse la "fase dei sogni del sonno".

Nonostante sia universalmente accettato che il gold standard per l'identificazione dell'addormentamento è l'EEG, numerose sono state negli anni le critiche sia al "via sonno"

proposto da Dement & Kleitman e Rechtschaffen & Kales (riduzione dell'attività alfa), sia da quello proposto da altri autori (comparsa degli spindles, o dei K-complessi).

Negli anni sono stati analizzati altri fenomeni che si modificano insieme all'EEG durante l'addormentamento, allo scopo di studiare e identificare in modo più preciso il SOP (sleep onset period): test comportamentali, modificazioni respiratorie, potenziali evento-correlati, analisi spettrale dell'EEG.

Effettivamente l'addormentamento è caratterizzato da una riduzione dell'attività elettromiografica (Hauri & Good 1975), da variazioni dell'elettrodermogramma (Hori 1982), della frequenza respiratoria (Ogilvie et al 1989), da un abbassamento della temperatura corporea (Van Den Heuvel et al 1998), da una riduzione della variabilità del ritmo cardiaco (Burgess et al 1999), da un aumento della soglia di risposta agli stimoli esterni (Ogilvie et al 1991; Staley et al 1994; MacLean et al 1992, Casagrande et al 1995, 1997).

La transizione veglia-sonno è inoltre caratterizzata da importanti modificazioni di tipo oculomotorio: progressiva riduzione dei blink palpebrali e dei movimenti saccadici, e comparsa dei movimenti oculari lenti (SEM) (Santamaria & Chiappa, 1987).

1.2 MOVIMENTI OCULARI LENTI DELL'ADDORMENTAMENTO

Durante la veglia sono presenti diversi tipi di movimenti oculari: saccadi, movimenti lenti di inseguimento, movimenti riflessi, che hanno come scopo quello di mantenere l'immagine dell'oggetto di interesse fissa sulla fovea, ovvero quella parte della retina più ricca di fotorecettori, e pertanto con maggiore acuità visiva. Questo viene assicurato anche se l'oggetto in questione oppure l'osservatore sono in movimento.

Dei movimenti oculari in veglia sono note le basi neuro-fisiologiche: i neuroni pre-oculomotori sono situati nella sostanza reticolare ponto-mesencefalica e a questi centri arrivano input dalla corteccia frontale (FEF) per i saccadi e dalla corteccia parietale (POT) per i movimenti di inseguimento. Le diverse strutture sono però strettamente interconnesse, per cui non esistono in realtà due vie così distinte per l'esecuzione dei due tipi di movimenti oculari (Fig.1).

Anche durante il sonno sono presenti movimenti oculari; nel 1953 Aserinsky e Kleitman descrivono due tipi di movimenti oculari durante il sonno: quelli lenti all'addormentamento e in occasione dei movimenti corporei durante il sonno (Fig. 2), che erano già stati descritti in precedenza (Miles, 1929; Andreev, 1950), e per primi identificano i REM (movimenti oculari rapidi).

NEURAL CONTROL OF EYE MOVEMENTS

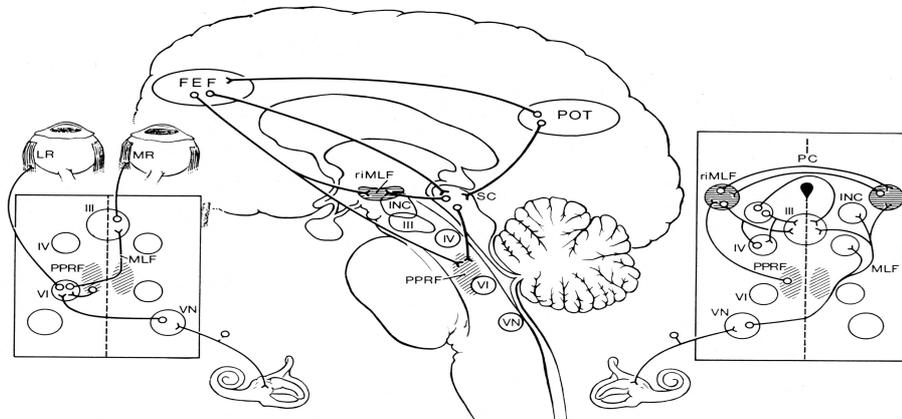


Fig. 1: Controllo dei movimenti oculari. FEF=frontal eye field; POT=parieto-occipital-temporal junction; SC=superior colliculus; riMLF=medial longitudinal fasciculus rostral interstitial nucleus; PPRF=paramedian pontine reticular formation. Il SC e la FEF sono importanti per la produzione dei saccadi, la POT è importante per la produzione dei pursuits. A sinistra e a destra sono rappresentati i nuclei dei motoneuroni e le loro connessioni nell'esecuzione dei movimenti oculari orizzontali e verticali.

In seguito gli autori si sono concentrati soprattutto sui REM, descritti come movimenti binoculari e sincroni che avvengono in tutte le direzioni dello sguardo e tendono a presentarsi in clusters (Dement e Kleitman, 1957); movimenti che non avvengono in maniera randomizzata ma in cluster e che riflettono probabilmente l'attivazione di un generatore periodico (Aserinsky 1971; Salzarulo 1972, Krynicki 1975, 1976, Lavie 1979). La presenza di tali movimenti è visibile durante la parte fasica della fase REM, mentre sono assenti nella fase REM tonica.

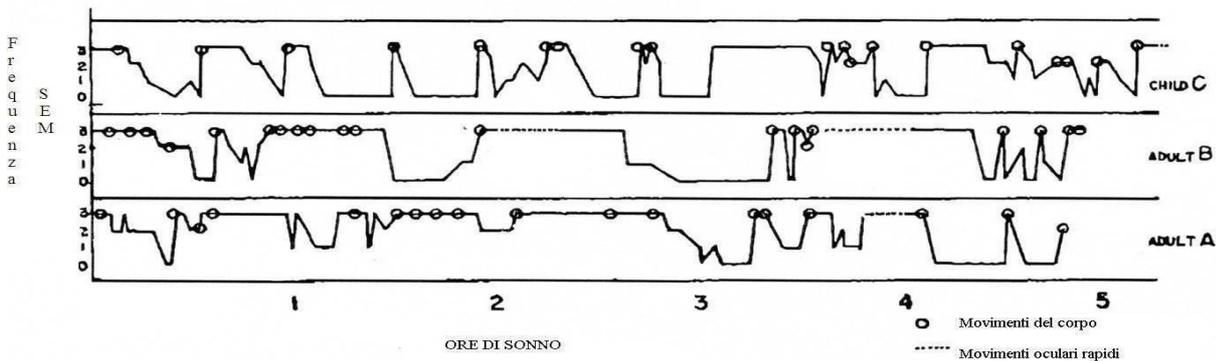


Figura 5. Relazione tra i SEM e la motilità del corpo durante il sonno. La linea continua rappresenta la frequenza dei SEM; i cerchi i movimenti del corpo; la linea tratteggiata i movimenti oculari rapidi. Tratto da: Aserinsky e Kleitman, 1955

Fig.2: relazione tra i SEM e i movimenti corporei nel sonno. La linea continua rappresenta i SEM, i cerchi i movimenti corporei, la linea tratteggiata i REM (Aserinsky & Kleitman, 1955)

Nel 1971 Jacobs e collaboratori osservano la posizione dei globi oculari durante l'addormentamento e il sonno: durante la transizione v-s i globi oculari si portano verso l'alto; compaiono SEM, coniugati, prevalentemente obliqui, che continuano anche per un tratto di fase 2. Quando compare il sonno lento (3-4) i globi oculari sono sempre sopraelevati, spesso divergenti, immobili. All'inizio della fase REM i globi oculari presentano un brusco movimento verso il basso (come in veglia) ed iniziano di nuovo dei SEM su cui si iscrivono gli scoppi di REM.

La presenza di movimenti oculari rapidi è stata osservata anche in utero (Prechtl e Nijhuis, 1983) e nei neonati poco dopo la nascita (Becker e Thoman, 1981).

A differenza dei REM, esistono pochi lavori che analizzano i SEM. Questo forse anche per l'oggettiva difficoltà a quantificare i SEM, che sono molto variabili, oltre che da soggetto a soggetto, anche nell'ambito dello stesso addormentamento, modificando morfologia e caratteristiche fisiche (durata, ampiezza, frequenza) mano a mano che l'addormentamento avanza.

Nonostante ci sia un'accesa discussione da anni, a tutt'oggi non sappiamo se le basi neurofisiologiche dei movimenti oculari in veglia e in sonno siano le stesse, o comunque se vi siano dei substrati comuni. La maggior parte degli autori ritiene, in base alle caratteristiche fisiche, che i SEM possano essere interpretati come saccadi lenti. Effettivamente la registrazione dell'attività di neuroni attivi durante l'esecuzione di saccadi nella scimmia (corteccia frontale), rivela che è presente una scarica simile durante l'esecuzione dei SEM (Bon & Lucchetti, 1997). E' possibile che l'assopimento favorisca l'esecuzione di movimenti oculari lenti, come ipotizzato nel lavoro di de'Sperati e Santandrea del 2005 in cui soggetti sani hanno il compito di eseguire saccadi e movimenti oculari

di inseguimento, dapprima in relazione ad uno stimolo visivo, poi solo immaginandolo. Da questo esperimento emerge che i saccadi possono essere eseguiti anche in assenza dello stimolo visivo, mentre i movimenti lenti di inseguimento possono essere eseguiti solo in presenza dello stimolo visivo. Ma quando siamo in presenza di un assopimento, è possibile “mimare” anche i movimenti lenti. Pertanto gli autori concludono con l’ipotesi che l’assopimento sia una condizione che di per sé favorisce l’esecuzione di movimenti oculari lenti.

CARATTERISTICHE DEI SEM

Un primo accenno ai SEM si può ritrovare nell’Eneide, al V canto in cui l’addormentamento/morte di Palinuro viene descritta come “*gli occhi oscillanti chiude*”.

I SEM sono movimenti oculari lenti, pendolari, coniugati, che si presentano solo all’addormentamento, non sono presenti durante la veglia e durante il sonno stabile. Nel Manuale di scoring del sonno universalmente utilizzato (Rechtschaffen & Kales, 1968) i SEM compaiono come caratteristici della fase 1 di sonno.

In particolare la percentuale di SEM aumenta progressivamente nei 5 minuti precedenti il sonno (primo spindle o primo K-complesso), iniziano prima dell’interruzione del ritmo alfa (Porte, 2004), raggiungono la massima espressione alla comparsa delle punte al vertice, e alla comparsa dei fusi del sonno si riducono in modo repentino (De Gennaro et al, 2000), come se i fusi potessero essere un trigger per la scomparsa dei SEM (De Gennaro et al, 2000).

Dal punto di vista fisiologico, non ci sono molti dati che indichino le possibili basi neuro-fisiologiche dei SEM; sappiamo che questi movimenti oculari sono presenti anche negli animali; infatti c’è uno studio a cui tutti gli autori fanno riferimento (Henn 1984), in cui viene registrata con elettrodi intracerebrali l’attività di diversi neuroni del tronco encefalico durante l’addormentamento, nella scimmia. Gli elettrodi vengono inseriti nei motoneuroni oculomotori, nei neuroni omnipausa (PPRF = formazione reticolare pontina paramediana), nei neuroni a scarica fasica e tonica (formazione reticolare mesencefalica rostrale, pontina paramediana e bulbare). Da questo studio emerge che durante la transizione v-s (veglia-sonno) si assiste ad una netta riduzione della scarica dei motoneuroni. I neuroni omnipausa, che in veglia sono tonicamente attivi durante la fissazione e silenti durante l’esecuzione dei saccadi, nella transizione v-s, alla comparsa dei SEM, cessano completamente di scaricare (Fig. 3). D’altra parte si assiste all’attivazione di alcuni burst-neurons durante l’addormentamento con comparsa di SEM.

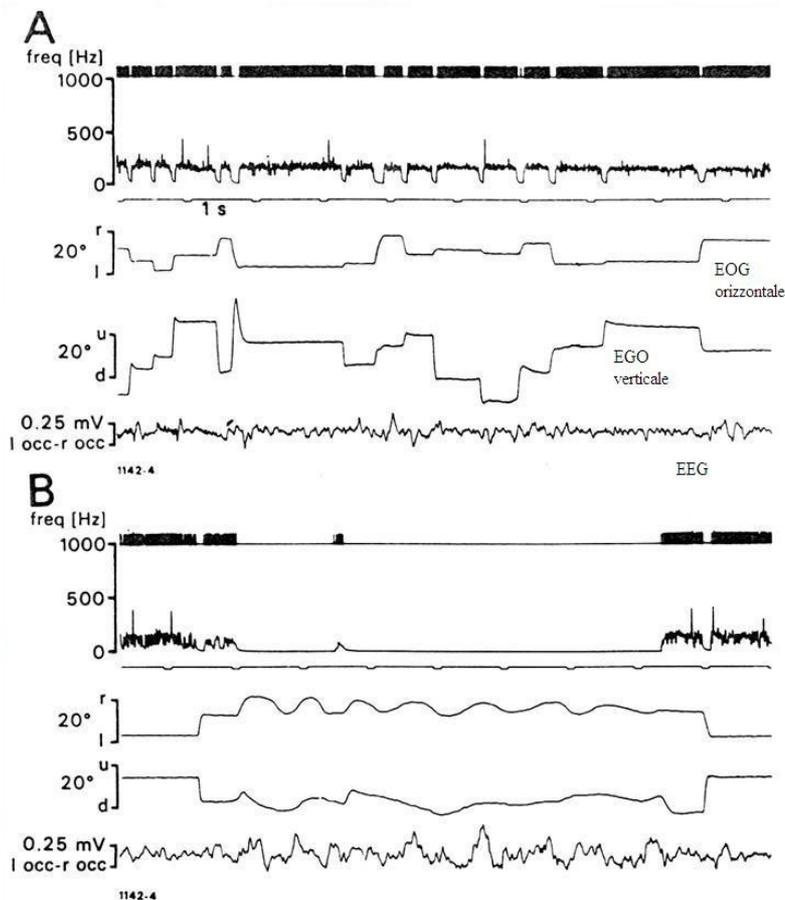


Fig. 3: I neuroni pause della formazione reticolare pontina. In A, durante la veglia, vediamo una scarica continua e regolare (la prima linea) di circa 180 Hz che si interrompe solo poco prima e durante i movimenti oculari rapidi (linea sottostante). In B, durante un periodo di sonno leggero, notiamo l'interruzione dell'attività delle pause cells accompagnata da movimenti degli occhi più lenti, continui e irregolari. Tratto da "Henn et al., 1984"

I SEM sono stati studiati in relazione alle altre variabili dell'addormentamento, in particolare alle modificazioni EEG e comportamentali, per verificarne l'utilità come marcatore di addormentamento e quindi di sonnolenza.

Diversi autori hanno suggerito una correlazione tra EEG e SEM senza però provarla (Kojima et al, 1981; Kulo & Lehman, 1964; Santamaria & Chiappa, 1987.). In questi studi emerge una correlazione positiva tra SEM e potenza spettrale nella banda alfa e theta, tra SEM e sonnolenza soggettiva, e tra SEM e risposte comportamentali (Akerstedt & Gillberg 1990; Torsvall & Akerstedt 1988; Bricchi et al 1995; Hiroshige & Miyata 1990), nel senso che in veglia, la presenza di SEM correla con una riduzione delle performance e con una sensazione soggettiva di sonnolenza. I SEM durante la transizione veglia-sonno mostrano una stretta relazione con le modificazioni EEG, in modo diverso a seconda che si studino soggetti svegli o ad occhi chiusi: dal lavoro di Torsvall & Akerstedt (1988) emerge che 2 epoche prima dell'errore nell'esecuzione di un compito durante un test di mantenimento della vigilanza, la potenza della frequenza alfa raggiunge il massimo sull'EEG; nell'epoca precedente compaiono i SEM, scompaiono quasi completamente i blink

palpebrali e aumenta anche la potenza della banda theta sull'EEG. Questa epoca rappresenterebbe, secondo gli autori, l'"ultima battaglia contro il sonno". Questi risultati sono gli stessi che gli autori avevano trovato un anno prima studiando i macchinisti dei treni che lavorano durante un turno di giorno e di notte: durante il turno notturno si era verificato un errore nel riconoscere un segnale di stop, che dal punto di vista poligrafico si accompagnava ad un aumento della potenza dell'attività alfa e theta e dalla comparsa dei SEM. I due studi portano a conclusioni molto interessanti in quanto dimostrano che in un soggetto sveglio, che sta compiendo un compito, un'intrusione di frequenze alfa e theta, e la comparsa di SEM, preannunciano un sonno comportamentale e quindi possibili errori nell'esecuzione del compito.

De Gennaro et al (2000) studiano invece soggetti durante l'addormentamento e mostrano che l'aumento di potenza nella banda delta è il miglior predittore della comparsa dei SEM.

SEM E SONNOLENZA

Essendo i SEM un marcatore di addormentamento, potrebbero essere utilizzati nella pratica clinica e nella ricerca anche per studiare la sonnolenza.

Il concetto di sonnolenza viene tradizionalmente riferito alla necessità di dormire. In pratica può essere definito come la velocità con cui un individuo si addormenta, cioè passa dall'attività EEG alfa della veglia rilassata all'attività theta della fase 1 di sonno (Carskadon & Dement 1982). Diversi studi hanno dimostrato che intrusioni di attività theta nell'attività alfa o beta della veglia si possono interpretare come sonnolenza. Durante tali intrusioni si assiste ad una riduzione delle performance (Daniel 1967, Horvath et al. 1976, O'Hanlon & Beaty 1977). Le caratteristiche EEG-EOG del sonno iniziano a comparire durante la veglia e si manifestano come riduzioni di performance. Questo stato inizia gradualmente ed è caratterizzato da un'oscillazione continua tra veglia e sonno.

La sonnolenza è uno stato di ridotta responsività, che si riflette in un deficit delle performance cognitive e psicomotorie. Ma diversi studi negli anni hanno dimostrato che la riduzione delle performance è lo stadio terminale di un processo che vede una progressiva riduzione di attenzione e un aumento dei tempi di reazione. Ovviamente il deficit di performance dipende anche dal tipo di attività che il soggetto compie: nelle attività auto-ritmate la sonnolenza si manifesterà con una riduzione di velocità dell'attività in corso, mentre in quelle etero-ritmate assisteremo ad una ridotta accuratezza (De Gennaro, 2005).

I diversi studi hanno quindi suggerito che i SEM potrebbero essere utilizzati come marker affidabile di addormentamento e di sonnolenza. Tuttavia la lettura visiva dei SEM nell'ambito delle polisonnografie risulta indaginoso comportando dispendio notevole di tempo, e una variabilità inter ed intra-individuale nella interpretazione di questi movimenti oculari, le cui caratteristiche sono

estremamente variabili. Pochi autori hanno tentato di trovare metodi automatici di lettura dei SEM (Suzuki et al, 2001; Hiroshige, 1999; Virkkala et al, 2007), basati soprattutto sulla trasformata di Fourier, che tuttavia non hanno portato a risultati incoraggianti.

1.3 METODI DI MISURAZIONE DELLA SONNOLENZA

Misurare la sonnolenza è complesso. A tale scopo, attualmente sono disponibili sia scale soggettive di autovalutazione che più precise metodiche elettrofisiologiche oggettive, che richiedono l'utilizzo di un laboratorio. Non esiste ancora, tuttavia, una metodica efficace, di facile applicazione e al tempo stesso affidabile, per la rilevazione della sonnolenza.

Possiamo riconoscere la sonnolenza da cambiamenti del comportamento del soggetto: comparsa di sbadigli, movimenti di caduta del capo, chiusura degli occhi, cambiamenti nell'espressione facciale e nell'attività oculomotoria

Valutazione delle prestazioni

Soggetti sonnolenti hanno spesso alterazioni delle loro capacità di percepire, di ragionare e decidere (Dinges and Kribbs 1991; Bonnet 1994). Sulla rilevazione di questi deficit si basano le seguenti misure di calo delle prestazioni.

Functional Outcomes of Sleep Questionnaire: mira ad individuare la difficoltà a compiere certe azioni quotidiane a causa della sonnolenza indagando 6 campi principali: livello di attività, vigilanza, vita privata, relazioni sessuali, produttività generale e relazioni sociali. Venne inizialmente validata per distinguere i soggetti normali da quelli patologici. Significative alterazioni nel compiere le attività quotidiane sono state rivelate in pazienti sonnolenti con severe condizioni mediche o in trattamento con politerapia (Gooneratne et al., 2003).

Test psicomotori

- Wilkinson Auditory Vigilance Task (WAVT): il soggetto deve distinguere suoni brevi (target) e lunghi (standard).

- Simple Reaction Time Test: è un semplice test di reazione ad uno stimolo acustico e dura 10 minuti.

- Four-Choice Reaction Test: si basa sull'utilizzo di un pannello con quattro luci e quattro bottoni, con identica distribuzione topografica. Le luci si illuminano una alla volta, casualmente, e il soggetto deve spingere il bottone corrispondente.

- The Multiple Vigilance Test (MTV): chiede ai soggetti di discriminare stimoli visuali (generalmente lettere) e stimoli standard (le stesse lettere rovesciate). Dura 30 minuti e il soggetto deve rispondere il prima possibile.

- Simulated Assembly Line Task (SALT): si richiede al soggetto di sedersi davanti ad un computer e correggere con un mouse gli errori di un circuito elettronico simulato sul monitor. Dura al massimo 60 minuti.

- Finger Tapping Task (Casagrande et al., 1997): il soggetto ha una tastiera con due bottoni da spingere ripetitivamente e alternativamente con le dita.

- Simulatore di guida (Balkin et al., 2000): il soggetto è seduto davanti ad un computer e deve guidare senza andare fuori strada su un percorso che cambia continuamente.

Test Cognitivi

- Wilkinson addition Test: (Wilkinson, 1970); si prende in esame la velocità e la precisione del soggetto nel fare calcoli aritmetici.
- Williams Word Memory Test: 25 parole di 4 lettere vengono lette al soggetto a gruppi di 10 e gli viene chiesto di ripeterle, testando in tale maniera la sua memoria.

Scale soggettive

Le misure soggettive di sonnolenza possono essere suddivise in due categorie; quelle che considerano la sonnolenza come un caratteristica di stato, costitutiva, e quelle che invece la considerano una componente di tratto, di un particolare stato d'animo (Curcio G. et al., 2001).

Sonnolenza come una condizione di stato:

- Stanford Sleepiness Scale (SSS; Hoddes et al., 1971). E' una scala di auto-valutazione composta da un unico item che indaga il livello di sonnolenza del soggetto in quel momento. La risposta è articolata su 7 livelli che vanno dalla completa vigilanza alla grave sonnolenza. E' una scala di rapida esecuzione e fattibile in ogni momento della giornata. Molti studi (Hoddes et al., 1973; Herscovitch and Broughton, 1981) hanno dimostrato che la sensibilità della SSS nel rivelare la sonnolenza aumenta conseguentemente al periodo di deprivazione di sonno, mentre non sembra essere così sensibile in pazienti che soffrono della sindrome delle apnee ostruttive, che tendono a negare il loro problema (Dement et al., 1978), o nel distinguere tra chi fa apnee e normali dormitori (Roth et al., 1980). Tuttavia è confermata essere una buona scala di valutazione in soggetti con narco-cataplessia (Aguirre and Broughton, 1987).

- Karolinska Sleepiness Scale (KSS; Akerstedt and Gillberg, 1990). Si basa su 9 livelli; il livello 1 indica la massima vigilanza, il livello 9 la massima sonnolenza. Il soggetto deve indicare il livello che meglio riflette lo stato psico-fisico nei 5 minuti precedenti la somministrazione della

scala. Un punteggio di 7 è patologico. Il punteggio della KSS aumenta nei periodi di veglia sostenuta (Akestedt and Gilberg, 1990) ed è fortemente correlata al momento della giornata (Kecklund and Akestedt, 1993).

- Accumulate Time with Sleepiness scale: (ATS; Gilberg et al., 1994) costituita da 8 livelli. Al soggetto viene chiesto di valutare la frequenza e la severità dei sintomi correlate alla sonnolenza.

- Visual Analogue Scale: (VASs; Monk,1987). Costituita da una linea di 100 mm sulla quale il soggetto deve fare una riga per misurare l'intensità delle sue sensazioni. Ci sono due differenti tipi di scale analogiche: unipolari e bipolari. Le prime valutano le sensazioni tra due estremi: "per niente" e "molto". Le seconde sono precedute dalla domanda "Come ti senti ora?" e ai due capi della linea hanno due aggettivi opposti: addormentato-sveglia, stanco-energico (Folstein and Luria, 1973).

- Pictorial Sleepiness Scale based on Cartoon Faces : chiede ai soggetti di classificare le facce di sette cartoni animati che rappresentano diversi livelli di sonnolenza. Si è mostrato utile soprattutto nei pazienti pediatrici o con un basso livello di scolarità.

Le scale di sonnolenza stato-correlata misurano la sonnolenza acuta e istantanea associata al momento del test. I limiti maggiori che presentano sono dovuti al fatto che spesso i soggetti confondono la stanchezza con la sonnolenza, hanno una percezione alterata della propria sonnolenza e inoltre richiedono una buona comprensione e capacità verbale.

Sonnolenza come componente di tratto:

-Epworth Sleepiness Scale: (ESS; Johns, 1991) (Versione italiana di Vignatelli et al., 2003).

Si basa sul fatto che tutti gli individui hanno un certo livello di sonnolenza indipendente dal ritmo circadiano, che si manifesta con l'addormentarsi durante situazioni di bassa stimolazione ambientale. Si chiede ai soggetti che probabilità hanno di addormentarsi in 8 diverse situazioni, valutandola su 4 livelli di intensità. Il limite superiore per definire una propensione patologica all'addormentamento diurno è di 11 punti.

- Sleep-Wake Activity Inventory: (SWAI). E' un questionario multidimensionale composto da 59 punti ognuno dei quali è valutabile su 9 livelli di intensità. Va ad indagare sei fattori principali: ESD, disturbi psichiatrici, desiderio di socialità, livello di energia, capacità di rilassarsi. Sembra essere uno strumento valido per distinguere tra soggetti normali e pazienti con ESD (Johnson et al., 1999), ha una buona concordanza con i valori MSLT e risulta sensibile agli effetti del trattamento terapeutico (Johnson et al.,1999).

- Questionario di Bologna sulla sonnolenza: (Rinaldi et al., 2001). Indaga la frequenza con la quale il soggetto ha avvertito stanchezza, sonnolenza resistibile, sonnolenza irresistibile e attacchi di sonno improvvisi, negli ultimi 3 mesi. Il terzo e quarto quesito [Appendice-5] presentano una buona concordanza con i valori di sonnolenza patologici all'MSLT (5-8minuti) (Rinaldi R et al., 2001).

Le opinioni sull'affidabilità delle misure soggettive e la loro concordanza con quelle oggettive è variabile a seconda degli autori. Il punteggio totale della ESS sembra distinguere in maniera significativa i soggetti normali dai patologici (sindrome delle apnee ostruttive, narcolettici e ipersonnie idiomatiche) (Johns 1991); concordanza variabile con il multiple sleep latency test (MSLT) (Johns 1991, 1994); (Punjabi N.M. et al., 2003). E' stato però notato che il suo punteggio non riflette in maniera precisa il grado di sonnolenza in pazienti con sindrome delle apnee ostruttive (Ronald D. et al., 1993).

Come avviene per altre scale soggettive, correlando i punteggi ESS e MSLT con la Symptom Checklist 90 (SCL-90, una misura dell'intensità dei sintomi psicologici) (Olson L.G. et al., 1997) è stato rilevato come l'ESS fosse maggiormente influenzata da fattori psicologici, rispetto all'MSLT, e che la correlazione tra le due fosse minore quando il tempo MSLT era < 5 minuti.

Nonostante la ESS sia la scala di valutazione soggettiva più diffusa e accettata, è consigliato utilizzarla per integrare altre misure di valutazione della sonnolenza e non come strumento isolato; è inoltre utile nel follow-up dei pazienti per vedere la progressione dei sintomi e la risposta al trattamento.

Le scale soggettive di valutazione della sonnolenza sono metodi veloci, facili e di basso costo. Dobbiamo ugualmente sottolineare che, in quanto auto-valutazioni, sono significativamente influenzabili dall'ambiente circostante e dallo stato emotivo del soggetto; molto spesso gli individui tendono inoltre a sovrastimare o sottostimare la loro sonnolenza. Tutto ciò fa sì che spesso non siano sovrapponibili nei loro risultati alle misure oggettive.

Misure Elettrofisiologiche

Test delle latenze multiple all'addormentamento: (Multiple Sleep Latency Test - MSLT; Carskadon and Dement, 1979). E' attualmente ritenuto il gold-standard nella valutazione dell'ESD. Si basa sul fatto che la sonnolenza sia una propensione ad addormentarsi in maniera particolarmente urgente. Consiste di cinque prove, a distanza di 2 ore l'una dall'altra, della durata di 20 minuti, durante le quali il paziente è sottoposto a registrazione poligrafica. La latenza sonno è calcolata dal momento in cui si spengono le luci nella camera del paziente, fino alla comparsa di una epoca di fasi 1, 2, 3,

4, o REM, di sonno. Tra una prova e l'altra il paziente può svolgere liberamente le proprie attività, a patto che non siano particolarmente attivanti e non deve dormire. Nella settimana precedente e durante la registrazione il paziente non dovrebbe assumere farmaci psicoattivi o stimolanti come caffeina e nicotina.

Una latenza sonno minore o uguale a 10 minuti è considerata patologica.

Diversi studi hanno individuato l'MSLT come il metodo più sensibile alle:

- variazioni della sonnolenza durante le 24h (Richardson et al., 1982; Levine et al., 1988)
- totale privazione di sonno (Carskadon et al., 1981)
- parziale privazione di sonno (Rosenthal et al., 1983)

Nonostante sia attualmente la misurazione elettrofisiologica più efficace ed utilizzata non è priva di svantaggi. Richiede infatti un laboratorio attrezzato, non viene svolta nell'ambiente di vita del paziente, ed è una metodica indagativa.

L'invasività della tecnica è ben accettata in ambito ospedaliero, ma la durata dell'esame è riconosciuta come uno dei limiti maggiori.

Test ripetuto di veglia sostenuta: (RSSW; Hartse et al., 1982) simile all'MSLT tranne nel fatto che richiede ai soggetti di stare svegli nel letto a luci accese.

Test di mantenimento della veglia: (MWT): il soggetto deve evitare di addormentarsi mentre è seduto su una poltrona, in una posizione confortevole e in una situazione di bassa stimolazione ambientale.

Da studi di validazione incrociata delle tre tecniche (Sugerman and Walsh et al., 1989) è risultato che l'MSLT è il test più sensibile per i soggetti normali, mentre RSSW e MWT sono migliori nel valutare soggetti con alti valori di sonnolenza e nel differenziare le cause dell'ESD. Tuttavia sono stati sollevati (Johns, 2000) dubbi sulla valutazione MSLT, in quanto essa misura solo una propensione situazionale al sonno e non distingue in maniera chiara soggetti con una normale o una patologica propensione all'addormentamento. L'indagare principalmente solo un aspetto della sonnolenza, la tendenza all'addormentamento, rende l'MSLT un gold standard limitato (Pivik, 1990).

Actigrafia: consiste nell'applicazione, con una cinghietta al polso, di un orologio multi-funzionale. Lo strumento contiene sensori sensibili al movimento, che trattengono in memoria segnali poi tradotti in un grafico dopo un periodo variabile di impiego (anche 3-7 giorni); in caso di insonnia è possibile osservare un'elevata attività motoria durante le ore notturne. È un'indagine strumentale semplice, poco costosa, di facile esecuzione, tollerabile e di immediata lettura. È tuttavia una tecnica molto grossolana che concede informazioni limitate.

EEG: la presenza di un ritmo alpha (8-12 Hz) e theta (4-8 Hz) in soggetti ancora svegli indica uno stato di sonnolenza o una riduzione della vigilanza (O'Hanlon and Beatty, 1977; Frushthorfer et al., 1977). In base a questa considerazione sono stati elaborati vari strumenti che individuassero i ritmi alpha e theta, tra cui l'Alpha Attenuation Test (Stampi et al., 1993). Si richiede ai soggetti di aprire e chiudere gli occhi ogni 2 minuti, per sei volte. Da qui si ricava l'alpha attenuation index (AAI) dato dal rapporto tra lo spettro di potenza dell'alpha a occhi chiusi (numeratore) e occhi aperti (denominatore).

Pupillometria: si basa sul fatto che la sonnolenza è accompagnata a variazioni del Sistema Nervoso Autonomo, che determinano anche dilatazioni e restringimenti del diametro pupillare (Lowenstein and Lowenfeld, 1958; Wilhelm et al., 1998).

Potenziali evocati: la componente lenta dei potenziali cerebrali evocati è alterata nello stato di sonnolenza dei soggetti sani e ha un'ampiezza più bassa nei narcolettici.

EOG: individua la possibilità di considerare la comparsa e le caratteristiche dei movimenti oculari come parametro per riconoscere la sonnolenza. E' l'argomento principale di questa tesi e verrà ampiamente trattato nei prossimi capitoli.

Attualmente non esiste comunque un marker biologico per la rilevazione della sonnolenza ufficialmente accettato e non sono disponibili strumenti oggettivi per misurare la stessa, che possano rispondere alle esigenze della medicina legale.

1.4 SCOPO DELLO STUDIO

Lo studio dei SEM si è articolato in 3 momenti:

1) Progettazione e validazione di uno strumento automatico di rilevazione dei SEM su tracciati poligrafici di sonno e di sonno-veglia in soggetti giovani normali.

Per attuare questo lavoro, pertanto, è stato ideato un metodo automatico di rilevazione dei SEM, basato sulla scomposizione wavelet del segnale EOG, che è certamente più adatto ad analizzare un segnale non costante nel tempo, grazie alla collaborazione con il Dipartimento di Elettronica, Informatica e Sistemistica dell'Università di Bologna (Prof Ursino, Dr.ssa Magosso).

2) Applicazione dello strumento automatico di rilevazione dei SEM a tracciati poligrafici di sonno e sonno-veglia di pazienti con patologia neurologica (Atrofia multisistemica e Paralisi Sopranucleare Progressiva), allo scopo di verificare se ci sono modificazioni della densità dei SEM in patologie che comportano anche degenerazione delle strutture del tronco encefalico, che ipoteticamente sono le più coinvolte nella genesi dei SEM.

3) Applicazione dello strumento automatico di rilevazione dei SEM a tracciati poligrafici di MSLT (Test di Latenza Multipla nel Sonno) di soggetti con OSAS (sindrome delle apnee ostruttive in sonno) e ipersonnia, e soggetti di controllo, allo scopo di verificare se i SEM possono essere utilizzati come marker di eccessiva sonnolenza diurna.

2- MATERIALI E METODI

2.1 VALIDAZIONE DELLO STRUMENTO AUTOMATICO

MATERIALE E ACQUISIZIONE DEI DATI

Per la validazione dello strumento automatico di rilevamento dei SEM abbiamo selezionato 10 soggetti di sesso femminile giovani (età media 21.7 anni), che si sono volontariamente sottoposte allo studio. L'esame obiettivo generale e neurologico era normale, non lamentavano disturbi del sonno. Nella settimana precedente l'esame dovevano seguire un regolare ritmo sonno-veglia e non assumere farmaci che potessero interferire con il sonno.

I 10 soggetti sono stati sottoposti ad una registrazione polisonnografica notturna (8 ore circa di registrazione) nel laboratorio di Polisonnografia del Centro Sonno della Clinica Neurologica dell'Università.

In seguito abbiamo selezionato 5 soggetti , 4 femmine ed un maschio (età media 26.4 anni), anch'essi senza disturbi del sonno e senza patologie di rilievo, che sono stati sottoposti a registrazione poligrafica di 24 ore, comprendente, quindi, sia il tracciato di veglia che quello di sonno. Durante la registrazione questi soggetti rimanevano all'interno della Clinica Neurologica ma erano liberi di muoversi e di fare varie attività (leggere, guardare la televisione, parlare, mangiare ecc).

I parametri registrati comprendevano: **4 canali EEG** (C3-A2; C4-A1; Cz-A1; O1-A2) con elettrodi montati secondo il Sistema Internazionale 10-20. Il segnale è stato registrato utilizzando un filtro passa-alto di 0.1 Hz e passa-basso di 70 Hz. **2 canali EOG** (destro e sinistro) con elettrodi posizionati ad 1 cm dal canto esterno di entrambe gli occhi, il destro spostato di un cm verso l'alto ed il sinistro di 1 cm verso il basso, in modo da poter registrare non solo i movimenti oculari orizzontali ma anche i verticali. Ciascun elettrodo era riferito alla mastoide controlaterale. Il filtro passa-alto era a 1 Hz ed il filtro passa-basso a 30 Hz. **1 canale EMG** relativo al muscolo miloioideo. I segnali EEG sono stati registrati con una frequenza di campionamento di 128 Hz ed i segnali EOG e EMG a 64 Hz.

In seguito sui tracciati poligrafici è stato eseguito lo scoring visivo del sonno secondo i criteri di Rechtschaffen & Kales (Rechtschaffen & Kales, 1968), valutando epoche di 30 secondi.

ANALISI DELL'EOG

E' stata poi eseguita l'**analisi visiva** dell'EOG per identificare i SEM su ciascun tracciato. Lo scoring visivo dei SEM è stato effettuato da tre esperti in Medicina del Sonno sulla base di queste caratteristiche (Torsvall & Akerstedt, 1988):

Escursioni lente (<3 Hz)

Le due tracce EOG in opposizione di fase

Ampiezza > 100 μ V

Durata > 1 secondo

Prima di iniziare la lettura dei tracciati, i tre esperti hanno fatto un training su altre polisonnografie per acquisire un metodo univoco di lettura dei SEM.

In caso di disaccordo sulla classificazione di un SEM, i tre esperti ne discutevano e si accordavano immediatamente. Durante lo scoring dei SEM non erano visibili le tracce EEG, in modo da non venire influenzati dalla fase di sonno. L'intrusione di segnali EEG sulle tracce EOG, soprattutto nelle fasi di sonno profondo, quando l'attività lenta potrebbe essere confusa con movimenti oculari lenti, è facilmente riconoscibile perché i segnali EEG sono in fase sui 2 canali EOG, mentre i movimenti oculari sono in opposizione di fase.

In ciascuna epoca veniva visualizzato l'evento SEM e la sua durata tramite una barra colorata.

L'**analisi automatica** è stata effettuata grazie all'elaborazione di un software basato sulla scomposizione wavelet del segnale EOG. Questo è stato possibile grazie alla collaborazione con il Dipartimento di Elettronica, Informatica e Sistemistica dell'Università di Bologna (Dr.ssa E. Magosso, Prof M. Ursino). L'algoritmo riceve i segnali delle tracce EOG come input e fornisce l'inizio e la durata dei SEM come output.

La scomposizione wavelet avviene secondo diversi dettagli (D1-D10), in base alla frequenza del segnale (Fig. 5); per i SEM il calcolatore utilizzerà gli ultimi dettagli (D7-D10), che sono relativi alle frequenze più basse. In base alla scomposizione viene elaborata una funzione discriminante che può avere valore tra 0 e 1; quanto più la funzione discriminante si avvicina a 1, tanto più siamo in presenza di SEM e il classificatore darà l'output "SEM".

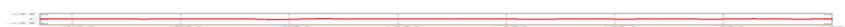
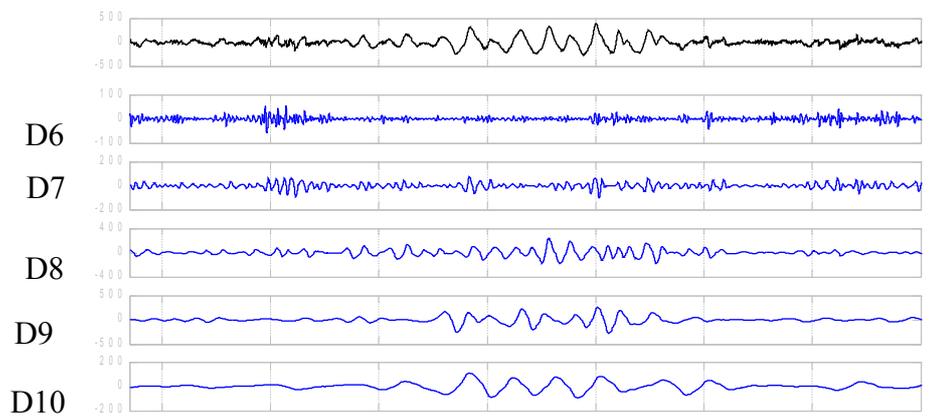
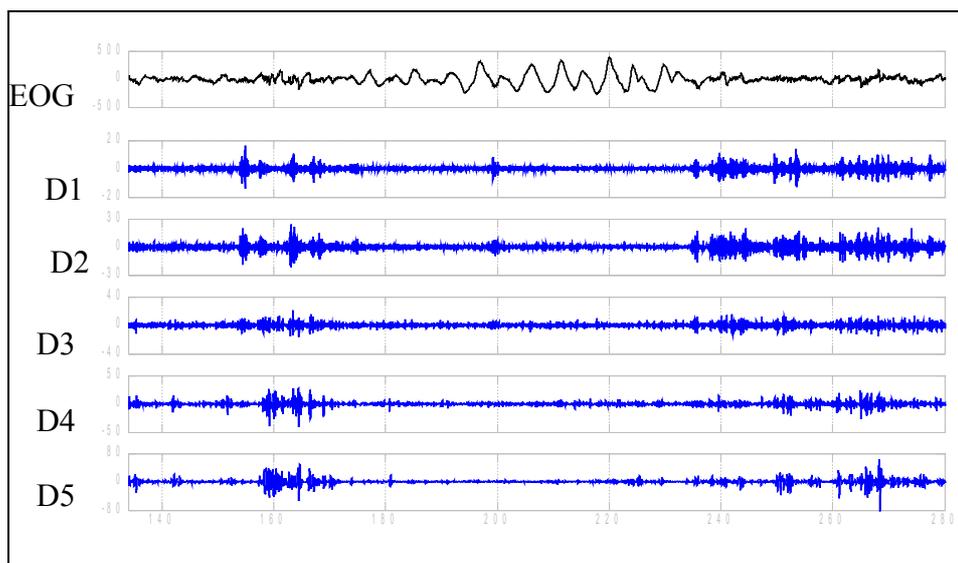
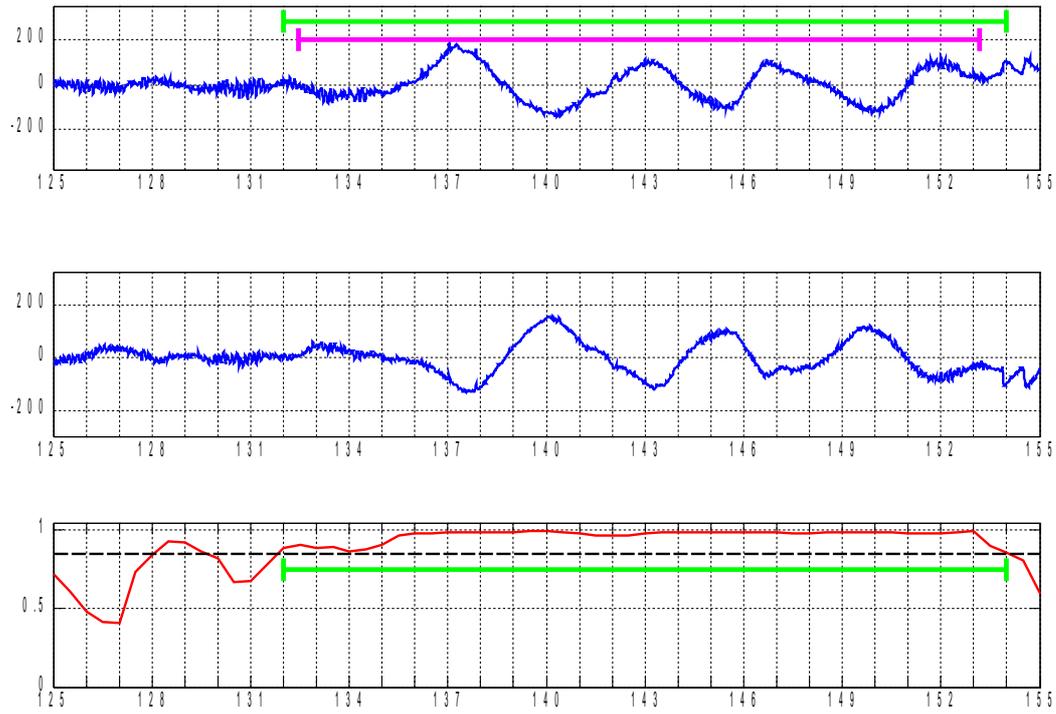


Fig. 5: scomposizione wavelet del segnale EOG. D= dettagli.

AI

termine della doppia lettura SEM si può calcolare l'accordo tra la lettura visiva e automatica in base al numero di epoche classificate come "evento SEM" sia visivamente che automaticamente (Fig. 6).



zione
1 sia

Fig. 6: sopra sono raffigurate le tracce relative ai 2 canali EOG (destra e sinistra); sotto la funzione discriminante che rimane stabilmente sopra alla soglia e pertanto questa epoca viene classificata come SEM sia visivamente (barra rosa) sia automaticamente (barra verde).

2.2 APPLICAZIONE DELLO STRUMENTO A TRACCIATI DI PAZIENTI CON PATOLOGIA NEUROLOGICA

Dopo aver applicato lo strumento automatico a soggetti normali, lo abbiamo applicato a soggetti con patologia neurologica, in particolare a soggetti con sindromi parkinsoniane a tipo Atrofia Multisistemica (MSA) e Paralisi Sopranucleare Progressiva (PSP). L'ipotesi era verificare se i SEM erano diversi dai soggetti normali in patologie dove ci sono alterazioni delle strutture del tronco encefalico, verosimilmente coinvolte nella genesi dei SEM e soprattutto se ci sono differenze tra i due tipi di parkinsonismo.

I pazienti sono stati reclutati in base alla presenza dei criteri diagnostici (Litvan et al, 1996; Gilman et al, 1998), verificati da tre esperti, indipendentemente dalla durata di malattia.

Ad ora abbiamo i dati completi di 4 pazienti con MSA e di 3 pazienti con PSP, anche se globalmente abbiamo arruolato 8 MSA e 4 PSP. Nella Tabella 1 sono riportate le caratteristiche dei pazienti.

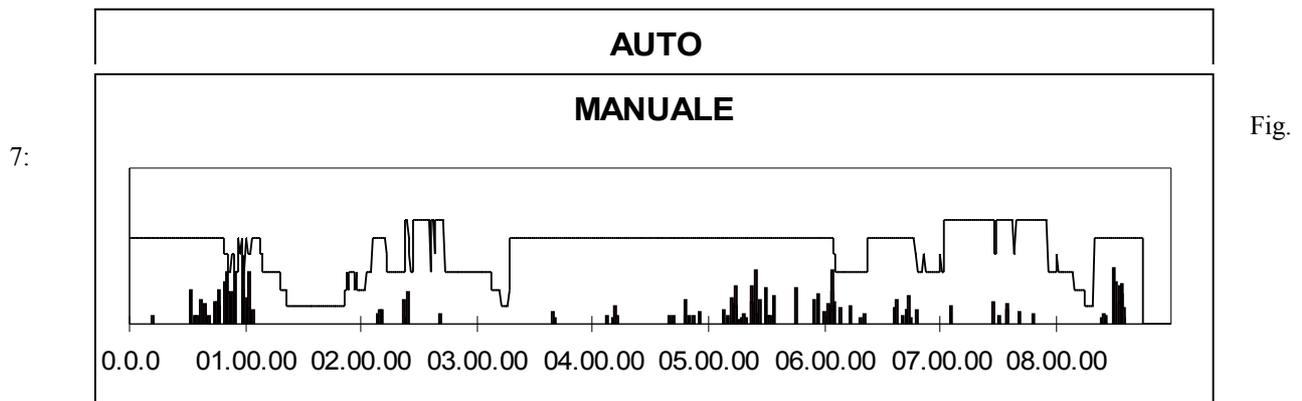
PZ	PATOLOGIA	ETA' anni	SINTOMI D'ESORDIO	DURATA DI MALATTIA anni
SP	MSA	48	RBD, stridor, Incontinenza	7
AB	MSA	58	Disautonomia, instabilità	4
ZA	MSA	73	Ipofonia, stridor, RBD	4
SF	MSA	73	Instabilità e disautonomia	3
BG	PSP	65	Disartria, rigidità assiale	7
BG1	PSP	64	Instabilità con cadute, disartria	9
SA	PSP	65	Instabilità con cadute, rigidità	4

Tab. 1

Nessun paziente assumeva terapia al momento della registrazione, in particolare terapia dopaminergica.

Come per i soggetti normali, i tracciati di sonno (8 ore di registrazione) e di sonno-veglia (24 ore di registrazione) sono stati analizzati per la presenza e la densità dei SEM sia visivamente da esperti di Medicina del sonno, sia automaticamente.

In seguito abbiamo correlato tramite una tabella di Excel, la fase di sonno e la densità dei SEM corrispondente, per ogni epoca di 30 secondi mantenendo la sequenza temporale della registrazione. Abbiamo inserito i dati ottenuti in un ipnogramma per ogni paziente e per entrambe le classificazioni (Fig. 7).



Ipogramma relativo ad una registrazione notturna (8 ore circa) in pz. con MSA. Le barre nere verticali sono i SEM classificati visivamente (sotto) e automaticamente (sopra). L'altezza delle barre indica la percentuale di un'epoca coperta da SEM (densità).

In seguito abbiamo calcolato la densità dei SEM per ogni fase di sonno, in tutti i pazienti.

2.3 APPLICAZIONE DELLO STRUMENTO A TRACCIATI MSLT (TEST DI LATENZA MULTIPLA DEL SONNO)

Scopo di questo studio era paragonare l'individuazione dei SEM alla metodica MSLT nel riconoscere soggetti con ipersonnia diurna (pazienti con sindrome delle apnee ostruttive in sonno = OSAS) e valutare l'efficacia dei movimenti oculari lenti nel differenziare soggetti con sonnolenza patologica da soggetti normali.

Si è cercato di individuare una densità di SEM (intesa come secondi di un'epoca occupata dai SEM), significativamente indicativa di sonnolenza e di evidenziare il suo diverso tempo di comparsa nei due distinti gruppi di soggetti studiati (latenza-SEM).

Abbiamo studiato 20 soggetti; di questi, dieci affetti da OSAS e dieci soggetti di controllo, afferiti al Centro Sonno per una percepita sonnolenza diurna, non strumentalmente dimostrata.

I 2 gruppi analizzati presentavano le seguenti caratteristiche:

- **10 OSAS** con un'età media di 44 +/- 8 anni (range: 37-58 anni). Tali pazienti presentavano russamento in media da 24 +/-8 anni; apnee notturne da 12 +/-8 anni e una sonnolenza diurna da 2+/-1 anni. L'indice medio di apnea/ipopnea era in media 60 ±17, con una saturazione minima di O₂ in media di 84±4%. Il punteggio medio alla Scala Epworth era 14±5.
- **10 controlli** con un'età media di 27+/-8 anni (range 21-39 anni). Riferivano tutti un'eccessiva sonnolenza diurna da 14+/-10 anni, con un range di ESS tra 8 e 19 (media 13); un paziente ha riferito un episodio di paralisi notturna, uno incubi e sonniloquio e una sindrome da sonno posticipato. Tra le comorbidità, una paziente con tiroidite cronica in trattamento con Eutirox, una con cefalea cronica ed uno con emicrania senz'aura e depressione. Tutti i controlli sono stati selezionati in base al fatto che presentavano valori nella norma delle registrazioni MSLT

Tutti i 10 soggetti hanno eseguito la registrazione secondo il protocollo MSLT (Littner et al. 2005) all'interno del Laboratorio di Poligrafia del Dipartimento di Scienze Neurologiche dell'Università di Bologna, dopo 48 h di registrazione del ciclo sonno-veglia.

L'esame è stato eseguito secondo le procedure standardizzate con il seguente montaggio:

- 4 canali EEG: C4-A1, C3-A2, Cz-A1, O2-A1
- 2 EOG: E1-A1, E2-A2
- ECG: con 2 derivazioni (una in clavicola destra ed una mediana sinistra, a livello della settima costa)
- EMG: Miloioideo

Ciascun MSLT consiste di 5 prove in un giorno, ad orari precisi (9:00; 11:00; 13:00; 15:00; 17:00), in cui il soggetto viene posto in un ambiente confortevole e invitato ad addormentarsi. Il test viene comunque interrotto a 20 minuti sia che il soggetto si sia addormentato sia che non lo abbia fatto.

Tutte le registrazioni sono state lette per epoche di 30 secondi, attribuendo ad ognuna la fase di veglia o sonno corrispondente, dal Tecnico di Neurofisiopatologia (TNFP) S. V., in accordo con i criteri di Rechtshaffen and Kales (1968). Per refertare le registrazioni MSLT è stato dato il "via sonno" a partire da un'epoca di fase 1, 2,3,4 o REM.

Per la lettura dei SEM la procedura è stata la stessa sopra-descritta: tre esperti hanno effettuato la lettura visiva e il calcolatore quella automatica.

In seguito abbiamo, dopo una riunione tra Esperti in Medicina del Sonno, scelto una soglia per il "via sonno" dato attraverso i SEM (evento SEM), dal momento che una porzione variabile di un'epoca può essere occupata dagli stessi. Abbiamo quindi deciso di considerare il 33% di un'epoca occupata da SEM (10 secondi) come la densità minima per considerare l'"evento SEM". La latenza-SEM risulta pertanto il tempo trascorso tra lo spegnimento delle luci e il primo evento-SEM, per ogni prova dell'MSLT. Per ogni soggetto abbiamo calcolato la latenza-SEM e la latenza-EEG media delle 5 prove.

Per ogni soggetto abbiamo poi costruito ipnogrammi associati ai risultati della lettura SEM (Fig. 8).

Infine abbiamo calcolato la mediana delle latenze SEM relative a tutte le prove nei pazienti e nei controlli.

In seguito abbiamo utilizzato il Test Mann Whitney per confrontare la latenza-sonno secondo i criteri EEG ed EOG negli OSA e nei controlli, dal momento che le prove dell'MSLT vengono interrotte dopo 20 minuti indipendentemente dall'addormentamento o meno. Per il confronto statistico tra latenza-EEG e latenza-SEM abbiamo applicato il test di Wilcoxon.

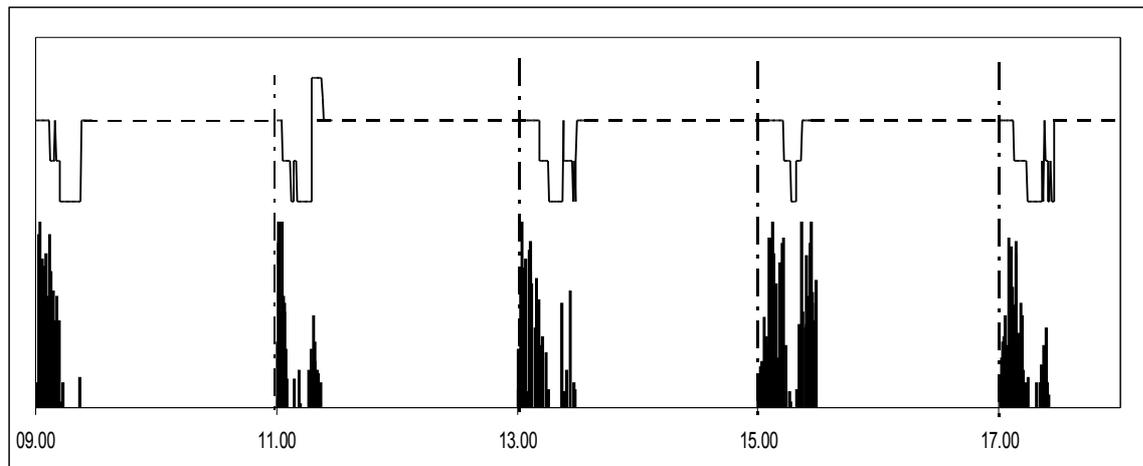


Fig. 8: Sopra è raffigurato l'ipnotogramma relativo alle 5 prove dell'MSLT in un paziente. Sotto sono rappresentati i SEM classificati automaticamente (l'altezza delle barre nere rappresenta la densità dei SEM, cioè la percentuale di un'epoca coperta da SEM). Sopra è rappresentato l'ipnotogramma. La linea tratteggiata è l'intervallo tra le prove, in cui il paziente non è registrato.

3 - RISULTATI

3.1 VALIDAZIONE DELLO STRUMENTO AUTOMATICO

La Fig.9 mostra l'interfaccia della lettura sia manuale che visiva dei SEM. Ciascuna schermata rappresenta un'epoca di 30 secondi, in cui compare una barra orizzontale che rappresenta l'evento-SEM (durata dei SEM in quell'epoca) nelle due letture. L'evento-SEM classificato automaticamente corrisponde al tempo in cui la funzione discriminante rimane al di sopra della soglia stabilita (terzo riquadro).

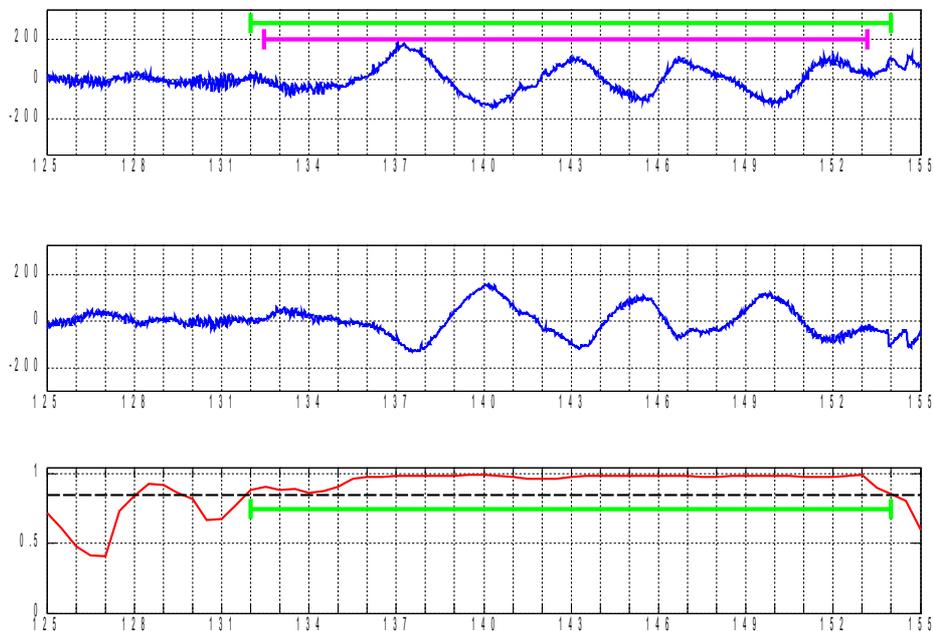


Fig.9: esempio di classificazione dei SEM. I primi due riquadri contengono il segnale EOG destro e sinistro in un'epoca di 30 secondi. Le barre colorate corrispondono alla durata dell'evento-SEM nella lettura automatica (verde) e manuale (rosa). Il terzo riquadro contiene la funzione discriminante.

Una volta ottenuta per tutti i tracciati la durata dei SEM per ciascuna epoca, abbiamo rapportato la lettura SEM ai singoli ipnogrammi. Sotto riportiamo un esempio in un tracciato di sonno notturno e in un tracciato di 24 ore (Fig. 10). In ascissa è riportato il tempo (ogni quadretto corrisponde a 15 minuti); in grigio chiaro compare l'ipnogramma; le righe scure verticali corrispondono ai secondi occupati da SEM per ogni epoca nelle due letture (automatica sopra e manuale sotto).

Quello che appare evidente è l'ottima correlazione tra la lettura manuale e automatica, sia come numero di epoche con SEM, sia come densità di SEM per epoca.

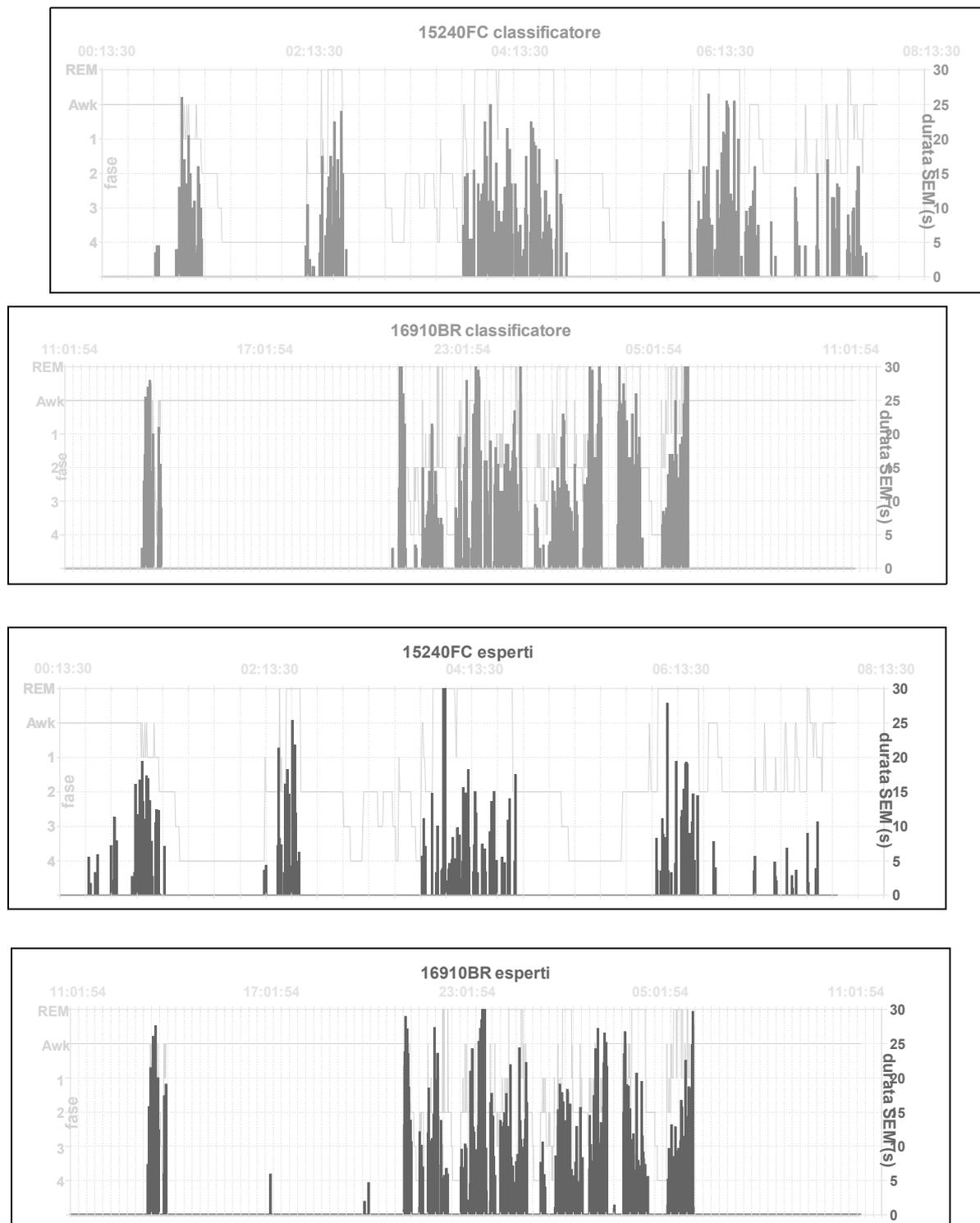


Fig.10: correlazione tra la lettura automatica e manuale in una registrazione notturna di 8 ore circa (due riquadri sopra) e di 24 ore (due riquadri sotto). Sull'asse delle x è riportato il tempo (ogni quadretto corrisponde a 15 minuti). In grigio è riportato l'ipnogramma; le linee verticali corrispondono alla durata degli eventi-SEM in ogni epoca.

Il tracciato relativo alle 24 ore, inoltre, mostra che il classificatore non riconosce SEM durante la veglia. Nell'esempio, infatti, i SEM compaiono solo in corrispondenza del "sonnellino" pomeridiano e in corrispondenza del sonno notturno.

In seguito abbiamo potuto verificare in quali fasi di sonno e di veglia sono stati classificati eventi-SEM con le due letture (Fig.11). Il grafico mostra una buona correlazione tra le due letture, con una tendenza del classificatore automatico a sovra-stimare la presenza di SEM in tutte le fasi.

Le fasi in cui i SEM vengono maggiormente classificati sono la fase 1, la fase REM e la veglia pre-ippica. Mentre da quanto si conosce sui SEM ci aspettavamo di ritrovarli soprattutto nelle fasi che precedono il sonno stabile, un risultato che ci ha stupito è stata l'elevata densità dei SEM in fase REM (In Fig.12 è riportato un esempio di SEM in fase REM). In fase 3 e 4 non compaiono SEM; i pochi classificati sono relativi a brevi alleggerimenti del sonno non tali da modificare la fase nello scoring. Anche in veglia non sono classificati SEM, tranne in brevi periodi di oscillazione della vigilanza.

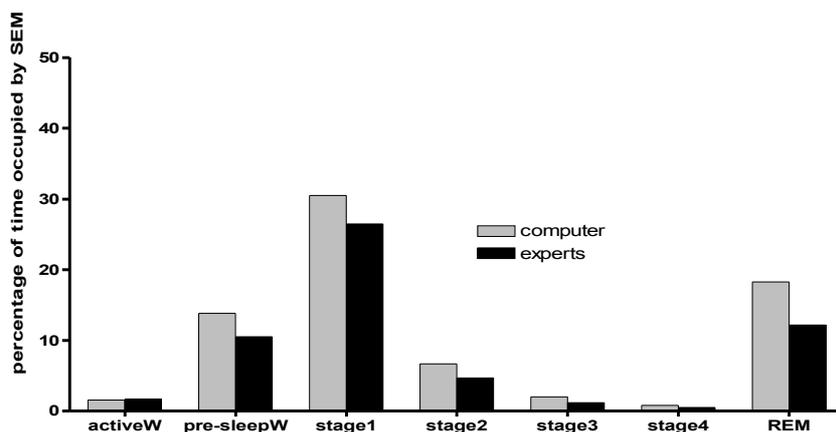


Fig.11: istogramma con la percentuale di SEM classificati automaticamente (grigio) e manualmente (nero) nelle singole fasi di sonno e veglia.

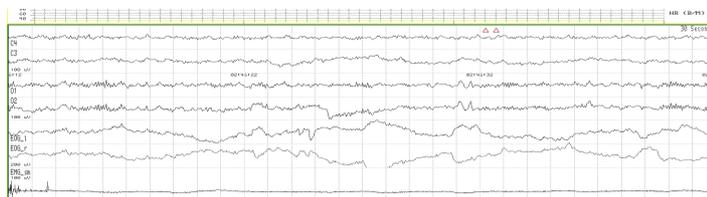


Fig.12: esempio di SEM in fase REM (EOG-L; EOG-R=oculogramma sinistro e destro). Le prime 3 tracce sono relative all'EEG, la 4° e la 5° all'EOG.

Calcolando per tutti i tracciati gli eventi SEM classificati in modo corretto dal calcolatore (TP=evento-SEM in entrambe le letture e TN=NON-SEM in entrambe) e quelli classificati in modo

non corretto (FP=evento-SEM solo per il calcolatore e FN=evento-SEM solo nella lettura manuale) abbiamo un'idea della concordanza tra i due metodi di classificazione, che riportiamo in tabella. La concordanza è il risultato del rapporto tra la somma di TP + TN e il numero totale delle epoche per 100; la sensibilità è il rapporto tra TP e TP + FN per 100; la specificità è il rapporto tra TP e TP + FP per 100. Dai calcoli la concordanza è risultata pari all' $87.7 \pm 5.2 \%$; la sensibilità all' $80.7 \pm 15.6\%$; la specificità al $63 \pm 10\%$. A fronte di una buona concordanza, lo strumento sembra lievemente deficitario nella specificità, in quanto seleziona eventi-SEM che gli esperti non classificano (FP). Andando a riguardare in quale fase questo accade maggiormente, abbiamo verificato che è la fase REM quella in cui le due letture si discostano maggiormente, mentre è massima la concordanza nella veglia attiva e nelle fasi di sonno profondo. Il grafico sottostante (Fig.13) mostra proprio come si distribuisce nelle varie fasi la concordanza tra le due letture.

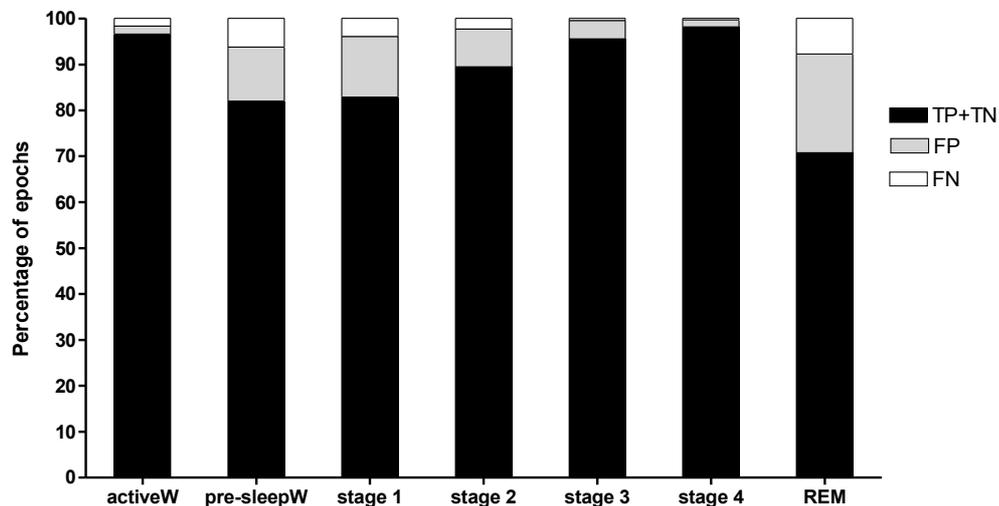


Fig.13: Correlazione tra la lettura automatica e manuale nelle fasi di sonno e veglia. In nero compaiono le epoche in cui le due letture coincidono. In grigio le epoche con eventi-SEM classificati solo automaticamente e in bianco le epoche con eventi-SEM classificati solo manualmente.

3.2 APPLICAZIONE DELLO STRUMENTO A TRACCIATI DI PAZIENTI CON PATOLOGIA NEUROLOGICA

Dall'analisi dei SEM nei pazienti con MSA e PSP, sono emerse nette differenze nella densità dei movimenti oculari, con SEM riccamente rappresentati nell'MSA in quasi tutte le fasi di sonno, mentre rari e di breve durata nei pazienti con PSP. Sotto ho riportato due esempi che raffigurano la densità dei SEM su tracciati di sonno notturno in un paziente con MSA (sopra) e PSP (sotto) (Fig. 14).

Se rapportiamo la lettura dei SEM agli ipnogrammi abbiamo un'idea ancora più precisa della differenza tra le due patologie (Fig.15), con SEM che si presentano abbondanti nell'MSA anche in fase 2, dove normalmente si ritrovano in percentuale bassa (4-5%), e SEM scarsi nelle PSP anche in fase di addormentamento dove normalmente si ritrovano in densità superiore.

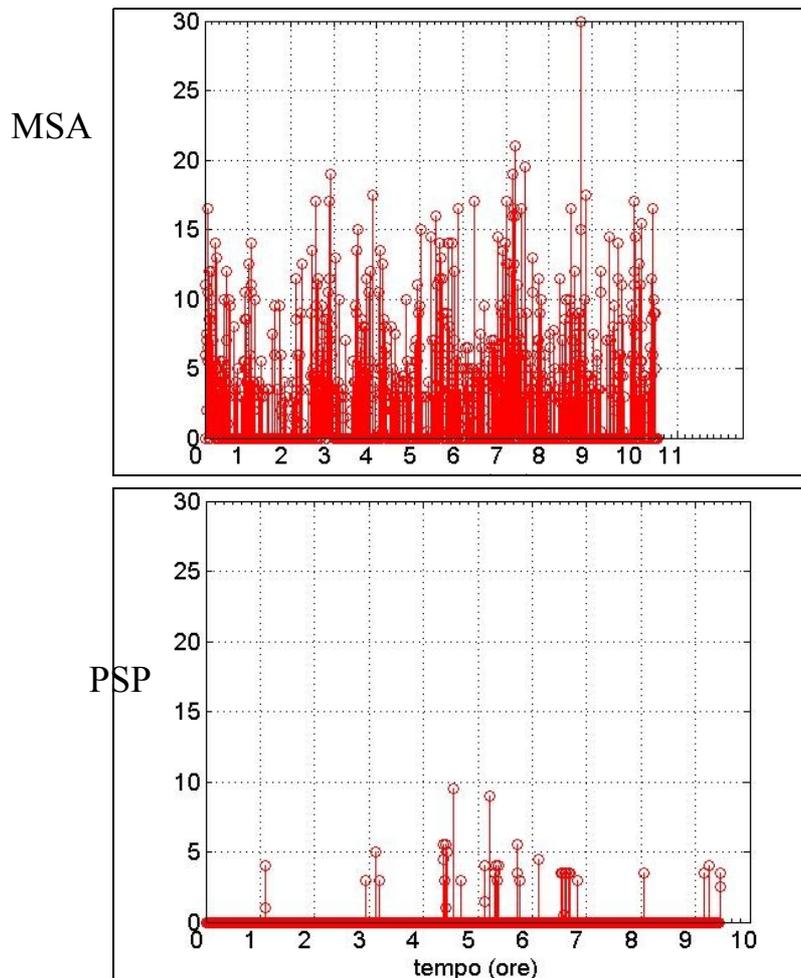


Fig.14: confronto fra densità SEM in un paziente con MSA (sopra) e PSP (sotto). In ascissa troviamo le ore di registrazione notturna. In ordinata i secondi di un'epoca. Le righe rosse rappresentano la densità dei SEM (secondi di un'epoca occupati da SEM).

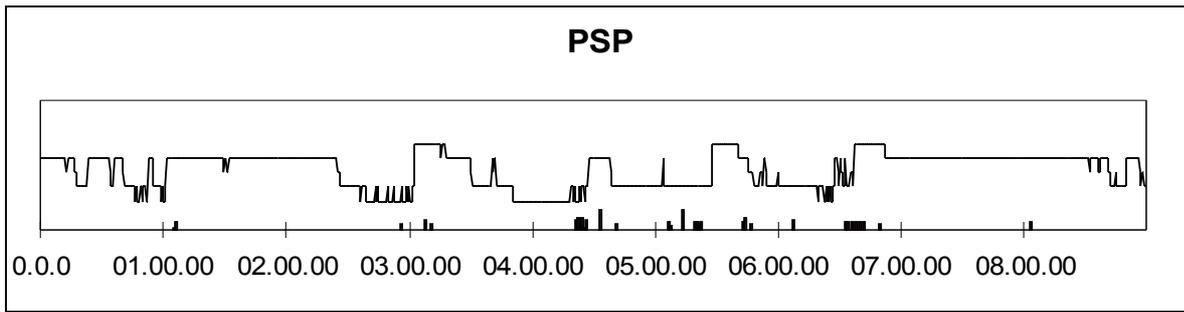


Fig.15: confronto tra densità SEM in un ipnogramma di un paziente con MSA (sopra) e PSP (sotto). Le righe nere verticali rappresentano i secondi di ciascuna epoca occupati da SEM. I numeri in ascissa sono le ore di registrazione.

Abbiamo poi calcolato la media della densità dei SEM nei tracciati relativi alle due patologie, calcolando anche la percentuale di ciascuna fase rispetto al sonno totale e l'efficienza del sonno, che è risultata leggermente inferiore nelle PSP. Come si può vedere dalle tabelle sottostanti (Tab. 2) e nei grafici che riportano gli stessi risultati visivamente (Fig.16), la densità media dei SEM (riferita alle singole fasi di sonno) è nettamente superiore nelle MSA rispetto alle PSP.

Anche nei tracciati patologici, come in quelli normali, il classificatore tende a sovrastimare gli eventi-SEM rispetto alla lettura manuale.

MSA	(%)	SEM AUTO. (%)	SEM MANU. (%)
Veglia	32,35	12	9.4
Fase 1	11,5	37.2	23.6
Fase 2	56,7	10.5	6.8
Fase 3-4	12,7	0.6	0.7
REM	19	14.6	3.8
Effic. sonno	67,6		

PSP	(%)	SEM AUTO. (%)	SEM MANU. (%)
Veglia	58,6	0,8	0,3
Fase 1	17,2	0,2	0
Fase 2	39,5	0,2	0
Fase 3-4	23,7	0,2	0
REM	19,5	0,4	0
Effic. sonno	41,3		

Tab. 2: confronto della densità dei SEM nei tracciati di MSA (sopra) e di PSP (sotto) rapportati alle singole fasi di sonno, classificati automaticamente (auto) e visivamente (manu).

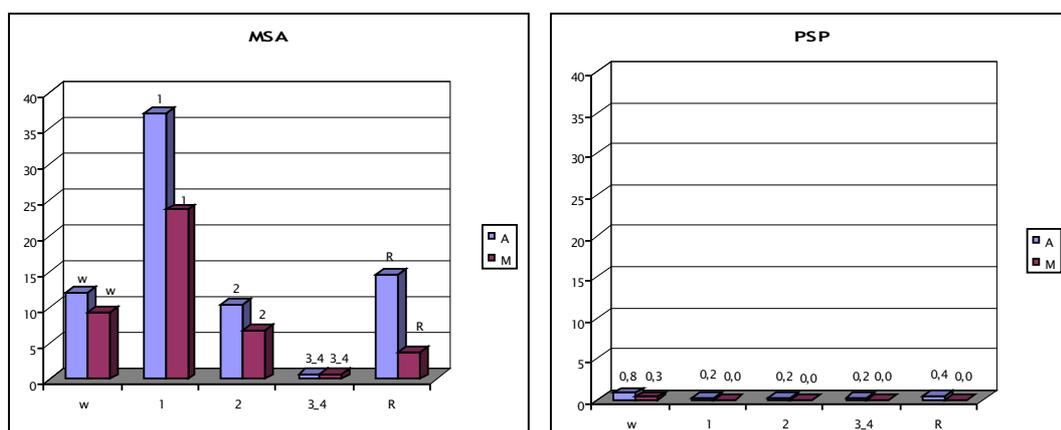


Fig.16: correlazione tra densità dei SEM nelle varie fasi di sonno in pazienti con MSA (sopra) e PSP (sotto). In ascissa sono riportate le fasi di sonno, in ordinata la percentuale di SEM secondo la lettura automatica (viola) e manuale (rosa)

3.3 APPLICAZIONE DELLO STRUMENTO A TRACCIATI MSLT

Visto che anche sui tracciati MSLT la concordanza tra lettura automatica e manuale è risultata alta, per l'analisi abbiamo considerato la sola lettura automatica.

Verificando nelle 100 prove MSLT la latenza-sonno con EEG e la latenza-SEM e calcolando la mediana delle latenze, abbiamo trovato una netta differenza tra i pazienti OSAS e i controlli sia per quanto riguarda l'EEG che i SEM: la mediana della latenza-sonno con EEG è risultata di 7' 27'' per i pazienti OSAS e di 17' 30'' per i controlli, con un range che va da 4' a 11' per gli OSAS, e da 14' a 18' per i controlli. Questo conferma il cut-off dei 10' di latenza sonno nelle prove MSLT per definire una eccessiva sonnolenza diurna secondo l'attuale diagnostica.

Andando a calcolare la latenza-SEM come possibile indicatore di eccessiva sonnolenza, abbiamo trovato che la mediana della latenza SEM negli OSAS è risultata di 5' 25'', mentre nei controlli di 12' 45'', con un range che negli OSAS va da 2' a 8', nei controlli da 8' a 17'. Viene pertanto rispettata la netta distinzione tra le due popolazioni con la possibilità sulla base del solo segnale EOG di distinguere soggetti normali da soggetti ipersonnici.

Abbiamo poi cercato di capire se la comparsa di SEM precedeva il via-sonno dato con i parametri EEG nei soggetti OSAS (50 prove): la latenza-SEM precede la latenza-sonno con EEG in 38 casi (76%), è contemporanea in 1 caso, mentre i SEM compaiono successivamente alle modificazioni EEG del sonno in 11 soggetti. Lo stesso studio effettuato nei controlli ha mostrato che i SEM precedono le modificazioni EEG in 12 soggetti (24%), sono contemporanei in 4, compaiono dopo in 4 test. In 15 soggetti non si trovano né SEM né modificazioni EEG, in 15 soggetti abbiamo trovato SEM non seguiti da via-sonno con EEG.

Per il confronto tra latenza-SEM e latenza-EEG nei pazienti OSAS e nei controlli è stato utilizzato il test di Mann Whitney, visto che le registrazioni MSLT venivano interrotte dopo 20 minuti, anche se il soggetto non si addormentava. Per il confronto tra latenze-SEM e latenze-EEG è stato applicato il test di Wilcoxon.

Dall'analisi statistica non è emersa quindi una significativa differenza tra le latenze-SEM e le latenze-EEG nei pazienti OSAS e nei controlli ($0.063 \leq P \leq 0.712$). E' invece risultata significativamente ridotta la latenza-EEG negli OSAS rispetto ai controlli ($0.000 \leq P \leq 0.003$) così come anche la latenza-SEM ($0.005 \leq P \leq 0.043$) (Fig.17).

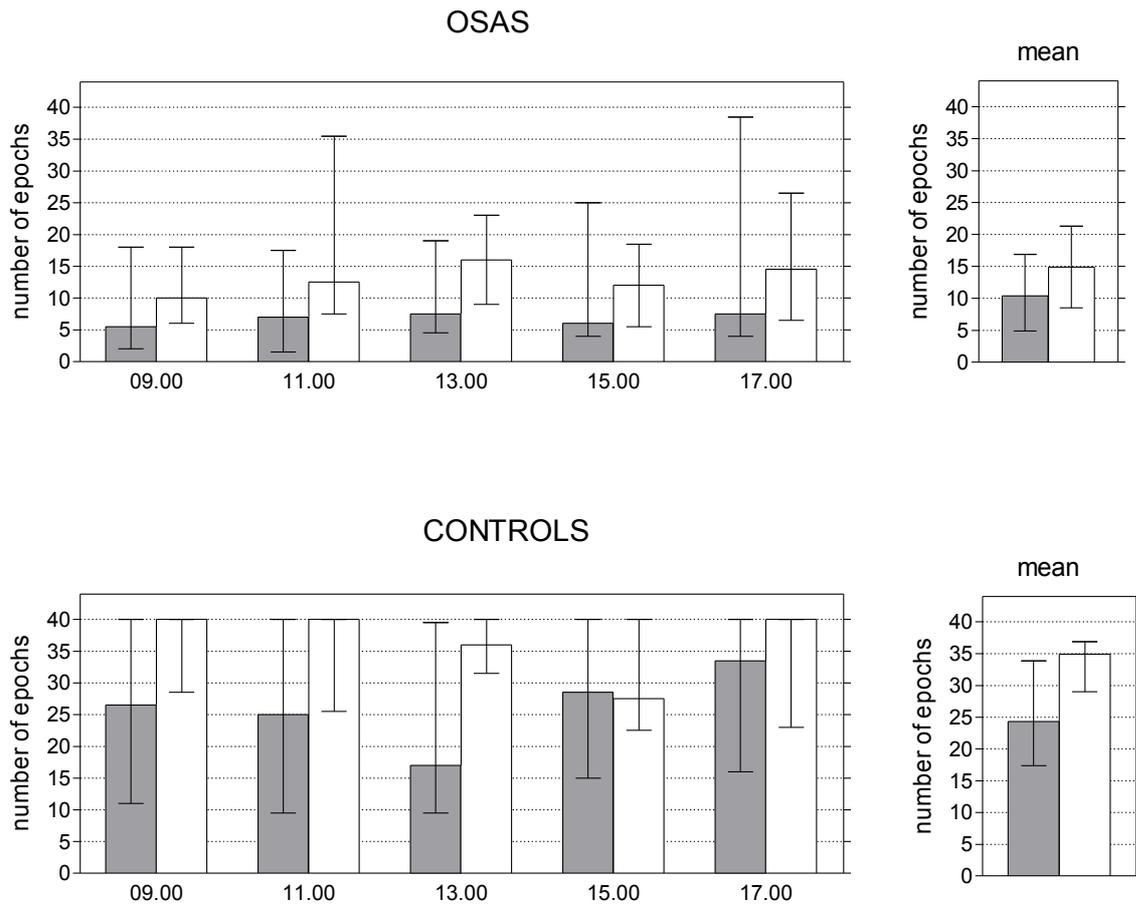


Fig.17: mediana della latenza-SEM e della latenza-EEG negli OSAS e nei controlli riferita alle 5 prove dell'MSLT. In grigio è riportata la latenza-SEM, in bianco la latenza-EEG. A destra è riportata la mediana della latenza-SEM ed EEG riferita alla media delle 5 prove.

4 - DISCUSSIONE

In questo lavoro, grazie alla collaborazione con il Dipartimento di Elettronica, Informatica e Sistemistica dell'Università di Bologna (Prof Ursino, Dr.ssa Magosso), è stato sviluppato un sistema di rilevazione dei movimenti oculari lenti dell'addormentamento (SEM) basato sull'analisi wavelet del segnale elettro-oculo-grafico (EOG). Fino ad oggi lo scoring dei SEM veniva effettuato visivamente, mentre solo pochi autori hanno tentato una lettura automatica (Hiroshige 1999, Suzuki et al, 2001; Virkkala et al, 2007), con risultati spesso non confortanti. Gli autori che hanno studiato maggiormente i SEM, hanno utilizzato una lettura visiva, o l'analisi di Fourier, che però non è adeguata ad analizzare un segnale continuamente variabile nel tempo. La lettura visiva dei SEM è gravata da alcune importanti mancanze: i criteri per la classificazione dei SEM sono convenzionali ma non sono mai stati validati con uno studio appropriato; esiste un'importante variabilità inter-individuale ma anche individuale nel riconoscimento dei SEM, soprattutto quando si esula dal segnale EEG. Infine lo scoring visivo di tracciati poligrafici prolungati, comporta un importante dispendio di tempo. Di qui la necessità di ideare un metodo automatico di riconoscimento dei SEM (Varri et al, 1996; Hirvonen et al, 1997; Louis et al, 2004; Agarwal et al, 2005). Probabilmente sappiamo poco dei SEM anche per queste difficoltà di riconoscimento e di analisi. Una conoscenza più accurata dei SEM potrebbe invece avere due importanti implicazioni: diventare un utile marcatore di sonnolenza al posto dell'EEG, permettendo di studiare i disturbi del sonno in un setting più semplice del laboratorio di polisonnografia, e potrebbe aprire nuove finestre sulla conoscenza dei processi che regolano il sonno. Già molti autori hanno dimostrato che i SEM sono un marker di addormentamento (Ogilvie et al, 1988; Kojima et al, 1981; Kulo & Lehman, 1964; Santamaria & Chiappa, 1987, De Gennaro et al, 2000,2005; Porte 2003, 2004), tanto che compaiono tra i parametri per classificare la fase 1 di sonno (Rechtschaffen & Kales, 1968). Nel nostro studio il sistema automatico di rilevazione dei SEM è stato validato analizzando tracciati di soggetti sani, dapprima solo relativi al sonno notturno, poi anche alla veglia. Dal confronto tra la lettura visiva di esperti e quella automatica è risultata una buona concordanza tra i due sistemi. I SEM sono stati riconosciuti prevalentemente nella veglia rilassata pre-ipnica e nella fase 1, mentre non sono stati riconosciuti nelle fasi di sonno profondo (3-4). I pochi SEM classificati in queste fasi, sono relativi a brevi risvegli del soggetto, non tali da modificare lo scoring della fase in quell'epoca. Dal confronto tra le due letture, si può notare una tendenza a sovrastimare i SEM da parte del classificatore automatico; tornando ad analizzare i tracciati ci siamo resi conto che la classificazione automatica non era errata, ma teneva conto di SEM di bassa ampiezza, che quindi

non rientravano nei criteri classificativi. In realtà ricordiamo che tali criteri non sono validati, e pertanto, anche sulla base di questi studi, potrebbero essere rivisti.

Un risultato che ci ha stupiti, e che negli studi sui SEM relativi agli ultimi anni non era mai emerso, è stata l'alta densità di SEM in fase REM, seconda solo alla fase 1. In effetti nei vecchi studi emergeva già una commistione dei due tipi di movimenti oculari-lenti e rapidi-, in fase REM (Rechtschaffen & Kales, 1968; Jacobs et al, 1971; Hansotia et al, 1990), tanto che Jacobs parla dei movimenti oculari in fase REM come di burst di movimenti rapidi che si sovrappongono a movimenti lenti continui. In effetti la fase REM è caratterizzata da fenomeni fasici, tra cui i REM, e fenomeni tonici, tra cui potremmo inserire i SEM.

Un importante risultato che abbiamo ottenuto con il classificatore automatico è stato verificare che i movimenti oculari della veglia, che comprendono sia saccadi che movimenti lenti, non sono stati classificati come SEM. Questo ha importanti conseguenze se si pensa di utilizzare i SEM come marker di sonnolenza, perché la loro comparsa è sempre correlata con la fase pre-ipnica.

Per verificare ulteriormente questo aspetto abbiamo considerato lo strumento più importante che abbiamo attualmente per diagnosticare una eccessiva sonnolenza diurna, l'MSLT, in cui il "via-sonno" viene dato sulla base dell'EEG, e abbiamo cercato di verificare se il "via-sonno" dato con i SEM portava alle stesse conclusioni, distinguendo in modo significativo una popolazione di soggetti ipersonnici da una popolazione di controllo. In effetti abbiamo trovato una netta differenza nella latenza-SEM tra le due popolazioni. Se aumentando il campione i risultati si mantengono, questo avrebbe importanti implicazioni pratiche in quanto nella diagnostica delle ipersonnie potrebbe essere introdotto un metodo semplice e rapido come l'analisi dei SEM, che prevede la registrazione dei soli EOG e non richiede un setting complesso come quello polisonnografico.

L'ipotesi, invece, di ritrovare i SEM sempre precocemente rispetto al via-sonno dato con EEG, non è stata confermata dallo studio sui soggetti ipersonnici, nel senso che abbiamo trovato un'elevata percentuale di prove in cui i SEM precedono le modificazioni EEG del sonno, ma tracciati in cui le due coincidono, o addirittura pochi tracciati in cui i SEM non vengono seguiti dal via-sonno. Questo in realtà è facilmente spiegabile se pensiamo che i SEM non sono indice di sonno, anzi, quando compare il sonno tendono a regredire; i SEM sono indice di addormentamento e di oscillazioni, anche brevi, della vigilanza; pertanto possiamo ritrovarli anche in assenza di quelle macroscopiche modificazioni EEG che ci consentono di marcare un'epoca come fase 1 o 2.

Come già emerso da precedenti studi (Torsvall & Akerstedt, 1987; De Gennaro 2000, 2005; Porte 2005), la comparsa dei SEM precede modificazioni "microscopiche" dell'EEG, nell'ambito ancora di una fase di veglia. Questo apre importanti frontiere all'uso dei SEM come marcatore non solo di addormentamento, ma anche di sonnolenza, utilizzabile quindi su soggetti svegli durante varie

attività lavorative. In effetti negli ultimi decenni la sonnolenza diurna ha assunto le proporzioni di un problema sociale, sia per una maggiore attenzione ai disturbi del sonno e al loro legame con patologie sistemiche, sia perché questi disturbi si traducono in una riduzione delle performance diurne, con maggiore probabilità di incidenti stradali e sul lavoro. E' pertanto già da tempo nota la necessità di identificare un marcatore valido di sonnolenza, in grado di identificarla addirittura prima che manifesti i suoi effetti (involontarie oscillazioni della vigilanza e quindi delle performance), ma a tutt'oggi l'identificazione della sonnolenza viene attuata in ambienti specialistici e sulla base di modificazioni contemporanee di più parametri; non è invece stato ancora identificato un marker unico affidabile di sonnolenza.

Sulla scorta di questi dati preliminari si possono considerare i SEM come marcatore di sonnolenza, applicando il sistema automatico di rilevazione dei SEM in modo più ampio e in diversi setting, ad esempio durante l'attività lavorativa o durante la guida.

Infine abbiamo applicato la doppia lettura - automatica e visiva - a tracciati di soggetti con patologia neurologica, prima di tutto perché i SEM sono sempre stati studiati in soggetti sani e non ci sono cenni di modificazioni dei SEM in ambito patologico, soprattutto in quelle patologie degenerative (MSA e PSP) che coinvolgono anche quelle aree del tronco dell'encefalo che sembrano essere, dai pochi dati di fisiologia che possediamo, essenziali per la genesi dei SEM. I dati per ora sono ancora scarsi, ma è emersa una netta differenza nella densità dei SEM tra le due patologie, con SEM molto frequenti nei soggetti con MSA e molto rari nei soggetti con PSP. Finora i lavori sulle modificazioni oculomotorie nei vari tipi di Parkinsonismi hanno analizzato solo i movimenti in veglia (saccadi e pursuit), identificando caratteristiche distintive delle varie sindromi (Parkinson Idiopatico, PSP, MSA, degenerazione striato-nigra, ecc). I SEM potrebbero diventare un marcatore ulteriore per differenziare queste sindromi precocemente, ovviamente aumentando il campione e selezionando i pazienti sulla base della storia di malattia per verificare se i SEM si modificano precocemente; inoltre potrebbero contribuire alla conoscenza delle basi fisiologiche dei SEM stessi.

BIBLIOGRAFIA

- Akerstedt T, Gillberg M
Subjective and objective sleepiness in the active individual
Int. J. Neurosci., 1990, 52: 29-37
- Andreev BV
Fiziol zhur, 36; 429; 1950
- Aserinsky E, Kleitman N
Two types of ocular motility occurring in sleep
J. Appl. Physiol., 1955; 8:1-10
- Atienza M, Cantero JL, Stickgold R, Hobson J
Eyelid movements measured by nightcap predict slow eye movements during quiet wakefulness in humans
J. Sleep Res., 2004, 13: 25-29
- Balkin TJ, Bliese PD, Belenky G, Sing H, Thorne DR, Thomas M, Redmon DP, Russo M, Wesensten NJ
Comparative utility for monitoring sleepiness-related performance decrements in the operational environment
J Sleep Res 2004; 13:219-227
- Bericchi H, Tiberge M, Arbus L
Predictive EEG and EOG criteria in detection of the onset of episodes of drowsiness in real life driving situations
Sleep Res., 1995, 24A:20
- Bon L, Corazza R, Inchingolo P
Eye movements during the wake-sleep cycle of the encephale isolé semichronic cat preparation
Electroenceph Clin Neurophysiol, 48(3); 1980:327-340
- Bon L., Lucchetti C
Activity of neurons related to eye movements during drowsiness in the frontal cortex of macaca monkey
Sleep, 1997; 20:501-504
- Burgess HJ, Kleiman T, Trinder J
Cardiac activity during sleep onset
Psychophysiology 1999; 36:298-306
- Carskadon MA, Dement WC, Mitler MM, Roth T, Westbrook P, Keenan S
Guidelines for the multiple sleep latency test (MSLT): a standard measure of sleepiness
Sleep, 1986, 9: 519-524
- Casagrande M, De Gennaro L, Violani C, Braibanti P, Bertini M
A finger tapping task and a reaction time task as behavioural measures of the transition from wakefulness to sleep: which task interferes less with the sleep onset process?
Sleep, 1997; 20:301-312
- Casagrande M, Violani C, De Gennaro L, Braibanti P, Bertini M
Which hemisphere falls asleep first?
Neuropsychologia 1995; 33:815-822
- Cluydts R, De Valck E, Verstraeten E, Theys P
Daytime sleepiness and its evaluation
Sleep Med rev 2002; 6:83-96
- Curcio G, Casagrande M, Bertini M
Sleepiness: evaluating and quantifying methods.
International J Psychophysiology 2001; 41:251-263
- Daniel RS
Alpha and theta EEG in vigilance
Percept Mot Skills, 1967, 25:697-703
- De Gennaro L, Devoto A, Lucidi F, Violani C
Oculomotor changes are associated to daytime sleepiness in the multiple sleep latency test
J. Sleep Res. (2005) 14, 107-112

- De Gennaro L, Ferrara M, Ferlazzo F, Bertini M
Slow eye movements and EEG power spectra during wakw-sleep transition
Clinical Neurophysiology 111 (2000) 2107-2115
- de'Sperati C, Santandrea S
Smooth pursuit-like movements during mental extrapolation of motion: the facilitatory effect of drowsiness
Cognitive Brain Research 25 (2005) 328-338
- Dement WC
Eye movements during sleep
In: M.B. Bender (Ed) The Oculomotor System. Hoeber Medical division, Harper & Row, New York, 1964:366-416
- Dement WC, Kleitman N
Cyclic variations in EEG during sleep and their relation to eye movements, body motility, and dreaming
EEG Clin Neurophysiol., 1957, 9:673-690
- Escudero M, Vidal PP
A quantitative study of electroencephalography, eye movements and neck electromyography characterizing the sleep-wake cycle of the Guinea pig
European J. Of neuroscience, Vol. 8; pp. 572-580, 1996
- Gilmen S, Low P, Quinn N et al.
Consensus statement on the diagnosis of multiple system atrophy
Clin Auton Res 1998; 8:359-362
- Hauri P, Good R
Frontali muscle tension and sleep onset
Sleep Res, 1975; 4:222
- Henn V, Baloh RW, Hepp K
The sleep-wake transition in the oculomotor system
Exp. Brain Res. 1984; 54: 166-176
- Hiroshige Y, Miyata Y
Slow eye movements and transitional periods of EEG sleep stages during daytime sleep.
Shinrigaku-Kenkyu, 1990, 60:378-385
- Hirvonen K, Hasan J, Hakinen V, Varri A, Loula P
The detection of drowsiness and sleep onset periods from ambulatory recorded polygraphic data
Electroenceph. Clin. Neurophysiol. 102 (1997) 132-137
- Hori T
Electrodermal and electro-oculographic activity in a hypnagogic state
Psychophysiology, 1982; 19:668-672
- Horvath M, Frantik E, Kopriva K, Meissner J
EEG theta activity increase coinciding with performance decrement in a monotonous task
Active Nerv Sup (Praha), 1976, 18:207-210
- Hyoki K, Shigeta M, Tsuno N, Kawamuro Y, Kinoshita T
Quantitative electro-oculography and electroencephalography as indices of alertness
Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol., 1998; 106: 213-219
- Jacobs L, Feldman M, Bender MB
Eye movemnts during sleep
Arch. Neurol, 1971; 25:151-159
- Johns MW
Sleep propensity varies with behaviour and the situation in which it is measured: the concept of somnificity
J Sleep Res 2002; 11:61-67
- Kakkanen H, Summala H, Pertinen M, Tihonen M, Silvo J
Blink duration as an indicator of driver sleepiness in professional bus driver
Sleep, 1999; 22:798-802
- Kjaer TW, Law I, Wiltschiotz G, Paulson OB, Madsen P
Regional cerebral blood flow during light sleep- a H2¹⁵O-PET study
J. Sleep Res. (2002) 11, 201-207

- Kojima T, Shimazono Y, Ichise K, Atsumi Y, Ando H, Auto K
Eye movements as an indicator of brain function
Folia Psychiatr Neurol Jpn 1981; 35:425-436
- Krauzlis RJ
Recasting the Smooth Pursuit Eye Movement System
J. Neurophysiol., 91:591-603; 2004
- Krynicky V
Time trends and periodic cycles in REM sleep eye movements
Electroenceph Clin Neurophysiol, 1975; 39:507-513
- Kuhlo W, Lehman D
Das einschlaferleben und seine neurophysiologischen korrelaten
Archiv Psychiatr Nervenkrankh 1964; 205:687-716
- Lavie P
Rapid eye movements in REM sleep – more evidence for a periodic organization
Electroenceph Clin Neurophysiol, 1979; 46:683-688
- Liberson WT, Liberson CW
EEG records, reaction time, eye movements, respiration and mental content during drowsiness
Recent Adv Biol. Psychiat., 1965; 8:295-302
- Litvan I, Agit Y, Caine D et al.
Clinical research criteria for the diagnosis of progressive supranuclear palsy (Steele-Richardson-Olszewski syndrome). Report of the NINDS-SPSP International workshop
Neurology 1996; 47:1-9
- Lugaresi E, Provini F, Montagna P
The neuroanatomy of sleep. Considerations on the role of the thalamus in sleep and a proposal for a rostro-caudal organization
Eur J Anat, 8 (2):85-93 (2004)
- MacLean AW, Arnedt T, Biedermann H, Knowlws JB
Behavioural responding as a measure of sleep quality
Sleep Res 1992; 21:105
- Magosso E, Provini F, Montagna P, Ursino M
A wavelet method for automatic detection of slow eye movements: a pilot study.
Medical Engineering and Physics 2006; 28:860-875
- Magosso E., Ursino M., Zaniboni A., Provini F., Montagna P.
Visual and computer-based detection of slow eye movements in overnight and 24-h EOG recordings.
Clinical Neurophysiology 118 (2007) 1122-1133
- Maquet P
Functional neuroimaging of normal human sleep by positron emission tomography
J. Sleep Res. 2000; 9:207-231
- Maquet P, Faymonville ME, Degueldre C, Delfiore G, Franck G, Luxen A, Lamy M
Functional Neuroanatomy of Hypnotic State
Biol Psychiatry 1999; 45:327-333
- Miles WR
Proc. IX Internat. Congress Psychol., 1929; pp. 308-309
- O'Hanlon JF, Beatty J
Concurrence of electroencephalographic and performance changes during a simulated radar watch and some implications for the arousal theory of vigilance
In: RR Mackie (Ed), *Vigilance*. Plenum Press, New York, 1977:189-202
- Ogilvie RD
The process of falling asleep
Sleep Medicine Reviews, Vol. 5, N° 3, pp. 247-270; 2001
- Ogilvie RD, McDonagh DM, Stone SN, Wilkinson RT
Eye movements and the detection of sleep onset
Psychophysiology, 1988; 25:81-91
- Ogilvie RD, Simons IA, Kuderian RH, MacDonald T, Rustember J
Behavioural, event-related potential, and EEG/FFT changes at sleep onset
Psychophysiology, 1991; 28:54-64

- Ogilvie RD, Wilkinson RT, Allison S
The detection of sleep-onset: behavioural, physiological and subjective convergence
Sleep, 1989; 12:458-474
- Porte HS
Slow orizontal eye movement at human sleep onset
J. Sleep res., 2004; 13:239-249
- Prechtl HF, Nijhuis JG
Eye movements in human fetus and newborn
Behav Brain Res, 1983; 10:119-124
- Rechtschaffen A, Kales A
A manual of standardizedterminology, techniques and scoring system for sleep stages of human subjects
Brain Information Service/Brain Research Institute, University of California, Los Angeles, C A, 1968
- Rinaldi R, Vignatelli L, D'Alessandro R, Bassein L, Sforza E, Plazzi G, Provini F, Lugaresi E Validation of symptoms related to excessive daytime sleepiness
Neuroepidemiology 2001;20:248-256
- Salzarulo P
Variation with time of the quantity of eye movements during fast sleep in man
Electroenceph Clin Neurophysiol., 1972, 32:409-416
- Santamaria J, Chiappa KH
The EEG of drowsiness in normal adults
J. Clin. Neurophysiol., 1987, 4:327-382
- Saper CB, Chou CT, Scammel TE
The sleep switch : hypothalamic control of sleep and wakefulness
Neurosciences 2001; 24:726-731
- Staley B, Metzger LJ, Gupta K, Schwab J
A novel technique utilizing a tactile stimulus to determine sleep and wakefulness
Sleep Res. 1994; 23:468
- Torsvall L, Akerstedt T
Sleepiness on the job: continuously measured EEG changes in train drivers.
Electroenceph Clin Neurophysiol, 1987; 66:502-511
- Torsvall L, Akerstedt T
Extreme sleepiness: quantification of EOG and spectral EEG parameters
Int. J. Neurosci., 1988, 38:435-441
- Van Den Heuvel CJ, Noone JT, Lushington K, Dowson D
Changes in sleepiness and body temperature precede nocturnal sleep onset: evidence from a polysomnographic study in young men
J. Sleep Res., 1998; 7:159-166
- Vignatelli L, Plazzi G, Brbato A, Ferini Strambi L, Manni R, Pompei F, D'Alessandro R
In behalf of the GINSEN. Italian version of the Epworth Sleepiness Scale: external validità
Neurol Sci 2003; 23:295-300
- Virkkala J, Hasan J, Varri A, Himanen SL, Muller K
Automatic sleep stage classification using two-channel electro-oculography
J of Neuroscience Methods 166 (2007) 109-115

RINGRAZIAMENTI

Desidero ringraziare tutti coloro che mi sono stati vicini in questi tre anni e che hanno contribuito alla realizzazione di questo studio:

il Prof. Pasquale Montagna, per il modo in cui mi ha accolto e stimolato continuamente, il miglior tutor che un dottorando può sperare di incontrare!

Tutto il “club” del Centro Sonno: Federica, Roberto, Margherita, Giuseppe, Stefano, Beppe, Ezechiele, Nino, Alessandra, Marzia; grazie per avermi “iniziato” al mondo dell’ipnologia e per avermi fatto sentire “a casa”.

Alessandra e Monica, sempre attente e disponibili

Grazie anche ai dottorandi del sonno con cui ho condiviso riunioni e punti di vista, idee e fatiche.

Grazie a tutti, perché quello che siamo dipende in grande misura dagli incontri che facciamo!!