



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PALERMO

**FACOLTA' DI MEDICINA E CHIRURGIA
DOTTORATO DI RICERCA IN FISIOPATOLOGIA NEUROSENSORIALE**

XXII ciclo

COORDINATORE: PROF. GIUSEPPE FERRARO

**DIPARTIMENTO DI BIOMEDICINA SPERIMENTALE E NEUROSCIENZE CLINICHE
(BioNEC)**

**Sequenziamento temporale ed
elaborazione neurale:
una prospettiva psicofisiologica**

**Tesi di Dottorato di
Francesca Giglia**

Tutor: Dott. Filippo Brighina

Co-Tutor: Prof.ssa Brigida Fierro

Il Coordinatore: Prof. Giuseppe Ferraro

Anno Accademico 2009/2010

Ad Alice

*“Che cos’è il tempo?
Se nessuno me lo chiede, lo so;
se dovessi spiegarlo a chi me lo chiede, non lo so;
eppure posso affermare con sicurezza di sapere che
se nulla passasse, non esisterebbe un passato;
se nulla sopraggiungesse, non vi sarebbe un futuro;
se nulla esistesse, non vi sarebbe un presente”.*

(Sant’Agostino, Confessioni)

Indice	
Introduzione	pag.1
Obiettivi	pag.17
Materiali e Metodi	pag.18
Esperimento di modulazione	pag.20
Appendice 1 : tDCS	pag.22
Analisi Statistica	pag.24
Risultati	pag.24
Esperimento 1	pag.24
Esperimento 2	pag.25
Esperimento 3	pag.25
Esperimento 4: modulazione con tDCS	pag.27
Grafici	pag.29
Discussione	pag.36
Conclusioni	pag.42
Bibliografia	pag.43

Introduzione

La percezione del tempo per la molteplicità di problematiche che sottende ha rappresentato e continua a rappresentare argomento di dibattito in ambiti diversi che travalicano quello strettamente scientifico investendo anche quello psicologico e filosofico. Nel settore più specialistico delle neuroscienze, più recentemente si è cercato di affrontare tale tema sulla base di parametri oggettivi e misurabili, delimitandolo alla ricerca dei meccanismi che sottendono la corretta collocazione temporale degli eventi.

In fisica il concetto di “Tempo” ha subito enormi travolgimenti nel corso dell’ultimo secolo con lo sviluppo della Teoria della Relatività di A.Einstein, secondo cui il tempo per osservatori in movimento l’uno rispetto all’altro scorre in modo diverso (teoria della relatività speciale). Riguardo all’esperienza della percezione del tempo possiamo dire che a differenza di altri attributi del mondo esterno come colori, suoni, superfici noi non disponiamo di alcun organo di senso per percepire il tempo.

I primi studi sperimentali sulla percezione del tempo possono essere ricondotti al XVIII secolo, quando il passaggio delle stelle veniva misurato con il metodo dell’occhio-orecchio che richiedeva il confronto fra un segnale visivo (la posizione della stella) e uno acustico (il suono

dell'orologio) sviluppato da Bradley. Questo metodo ben presto diede vita a quello che è conosciuto come il problema dell'osservatorio di Greenwich (Leviting et al 2003).

Nel 1829 Bessel avanzò l'ipotesi che fosse possibile calcolare per ogni astronomo una certa differenza personale (costante) e che con essa si potessero trasformare le percezioni temporali soggettive in percezioni temporali obiettive. Tale tesi venne presto confutata, ma i suoi successori conclusero che le differenze personali per ogni soggetto dipendevano da molti fattori sia oggettivi che soggettivi: la grandezza della stella osservata, la direzione e la velocità del suo moto, l'addestramento del soggetto, il suo stato psichico ed altre circostanze contingenti meno significative.

Nel 1830 l'astronomo Nicolai sostenne invece che la causa delle differenze fra individuo ed individuo nella misurazione del passaggio delle stelle con il metodo occhio-orecchio, dovesse risiedere nella differenza fra i "riflessi mentali" dell'occhio e quelli dell'orecchio, propria di ogni singolo osservatore. E' comunemente accettato che Nicolai con il termine riflessi mentali si riferisse a differenze di natura fisiologica.

Un innovativo contributo al tema della percezione temporale di stimoli visivi ed acustici fu poi portato da Hartmann nel 1858, il quale mostrò come "l'attesa" (fattore psicologico di natura centrale) avesse un ruolo determinante nella percezione temporale. Egli aveva infatti notato come

la localizzazione temporale di un evento divenga molto più precisa se tale evento è in qualche modo atteso, se cioè il momento in cui esso occorre è in un qualche modo predicibile.

Wilhelm Wundt è insieme a Fechner considerato il padre della psicofisica e della psicologia sperimentale, discipline queste che sono state introdotte appunto con studi sulla percezione della simultaneità. Wilhelm Wundt riteneva che l'ipotesi fisiologica non potesse spiegare da sola il fenomeno della dislocazione temporale e che la dislocazione di stimoli eterogenei non fosse solo dovuta esclusivamente ad una "differenza di prontezza" degli organi di senso implicati. Questa convinzione era stata anche avvalorata dalle ricerche di altri autori da cui risultava che fossero possibili dislocazioni temporali anche all'interno di una stessa modalità sensoriale. Ciò portò Wundt a cercare una spiegazione in termini "psicologici" ovvero attentivi. Secondo Wundt la condizione indispensabile affinché una sensazione sia afferrata è che l'attenzione sia diretta su di essa, quando poi le sensazioni sono due o più di due, l'attenzione può distribuirsi in modo uguale su di esse e riunirle in una unica rappresentazione solo se queste appartengono alla medesima modalità sensoriale producendo così la percezione di simultaneità. Le conclusioni a cui Wundt giunse con i risultati dei suoi brillanti esperimenti, furono che le illusioni temporali sono "l'effetto delle condizioni in cui lavora l'attenzione", le quali però variano a seconda di molti diversi fattori, come ad esempio la velocità di traslazione della lancetta sul quadrante o il numero di stimoli acustici che

contemporaneamente vengono presentati al soggetto al momento di risolvere la posizione spaziale della lancetta in traslazione.

Il primo a studiare la mente in termini di distinti stadi di elaborazione, fu F.C. Donders uno scienziato olandese meglio conosciuto per i suoi lavori di oftalmologia. Donders si propose di misurare attraverso i tempi di reazione la complessità dei processi mentali, facendo ricorso a misurazioni differenziali dei tempi necessari allo svolgimento di processi mentali di diversa complessità (Luccio R. 1996). Donders pubblicò il suo lavoro in psicologia in un articolo del 1869 nel quale egli confutava ciò che era stato affermato 25 anni prima dal fisiologo Johannes Muller e cioè che il tempo richiesto da una stimolazione provocata su un nervo per trasportare il suo messaggio al cervello era infinitamente piccolo e quindi la velocità di conduzione del nervo non sarebbe mai stata possibile misurarla.

Nell'articolo Donders faceva invece notare come, in opposizione a ciò, dal 1850 il famoso scienziato tedesco Helmholtz fosse riuscito in questo compito. Helmholtz aveva messo a punto una tecnica per misurare la velocità di conduzione nervosa nelle rane e poi aveva applicato gli stessi principi per una serie di esperimenti sugli umani. In questi esperimenti quello che era misurato era il tempo che intercorre fra la presentazione di uno stimolo sulla pelle e il riflesso involontario generato da questo. Mettendo a confronto due diverse condizioni di stimolazione calcolò la velocità di conduzione nervosa dalla differenza fra i tempi di reazione

nella prima e nella seconda condizione. Questa operazione lo portò a stimare una velocità di 100 piedi al secondo.

Le meticolose indagini di Donders lo portarono a stabilire che i tempi di reazione per gli stimoli visivi sono nell'ordine dei 180 ms mentre i tempi di reazione per quelli acustici intorno ai 140 ms. La mole di ricerche successive a Donders che ha utilizzato i TR (Tempi di reazione) ha permesso di stabilire che questi dipendono in realtà da una vasta gamma di fattori: l'intensità dello stimolo presentato (la relazione fra tempi di reazione e intensità dello stimolo è correttamente predetta dalla equazione di Pieron) , la posizione spaziale ove lo stimolo è dislocato rispetto al soggetto , il livello di predittività della comparsa dello stimolo, etc.

Una delle classiche tecniche utilizzate negli studi di percezione temporale sono i *giudizi di ordine temporale* che possono venire suddivisi in due sottocategorie:

1) Simultaneità/successione: I soggetti devono semplicemente giudicare se due stimoli sono stati presentati simultaneamente oppure no ,

2) Ordinamento temporale: Ai soggetti vengono mostrati coppie di stimoli con diverse asincronie temporali, cioè con diversi gradi di anticipazione o di ritardo di uno dei due stimoli rispetto all'altro e

questi vengono chiamati ad indicare quale stimolo hanno visto apparire per primo

1) Exner (1885) utilizzava una metodologia che consisteva nel presentare al soggetto una coppia di stimoli eterogenei in stretta successione e nel determinare quali fossero le relazioni temporali oggettive fra di essi (asincronie temporali) che producevano la percezione di contemporaneità soggettiva fra quegli stimoli. Per quanto riguarda gli studi su stimoli visivi e acustici, già Exner aveva scoperto che questi stimoli sono percepiti come simultanei quando gli stimoli visivi sono anticipati nel tempo rispetto agli stimoli acustici e ciò a causa della “maggiore lentezza” della sensazione visiva!

2) Hirsh and Sherrick (1961) mostrarono che il più piccolo intervallo temporale affinché si possa correttamente giudicare il 75% delle volte (soglia appena percettibile) quale di due stimoli è presentato prima dell'altro, si aggira intorno ai 20 ms. Sorprendentemente Hirsh and Sherrick trovarono che questo valore di soglia rimaneva costante per una vasta gamma di combinazioni di stimoli visivi, acustici e persino tattili. Hirsh and Sherrick (1961) mostrarono anche che per intervalli di tempi piccolissimi possiamo ancora essere in grado di percepire due eventi come non simultanei anche se non si è in grado di dire quale evento sia accaduto prima e quale successivamente

Benché i meccanismi neurofisiologici alla base della percezione temporale non siano ancora definiti si ritiene attualmente verosimile

che il SNC derivi la variabile “tempo” come una trasformata della variabile “spazio”.

In tal proposito, particolarmente suggestivi sono i fenomeni di illusione spaziale definiti come “saltazione” (percezione di stimoli in posizione diversa rispetto a quella in cui vengono applicati). Tali fenomeni sono stati descritti per la prima volta da Geldard e Sherrick nel 1972 tramite stimolazioni tattili successive ravvicinate nel tempo (in un range temporale da 50 a 500 msec) di aree cutanee vicine dell'avambraccio. Le conclusioni pionieristiche a cui giunsero gli autori erano fondamentalmente l'intuizione che il fenomeno della saltazione avesse un'origine cerebrale (e non dipendesse da meccanismi situati nella cute, difatti il fenomeno si verifica anche in presenza di anestesia cutanea). Tali fenomeni di saltazione sono stati dimostrati anche con stimolazione visiva (Geldard 1976) ed acustica (Bremer et al, 1977), e dipendono in modo critico dall'intervallo temporale tra gli stimoli.

Studi successivi hanno identificato ulteriori condizioni vincolanti riguardo all'illusione tattile, come ad esempio il fatto che l'illusione è limitata in siti di stimolazione che appartengano allo stesso dermatomero, e che si trovino confinati in una sola metà del corpo (Geldard FA, Sherrick CE (1972); Geldard FA (1977) ; Geldard FA (1980); Geldard FA (1981) ; Cholewiak RW (1999) , e che i punti di stimolazione reali devono essere situati necessariamente in zone

cutanee contigue (*Geldard FA (1982b); Geldard FA, Sherrick CE (1983)* ;*Eimer M (2005)*). Gli stessi autori hanno esplorato altri parametri della stimolazione come il numero e il timing delle ripetizioni, l'intensità dello stimolo (*Geldard 1982b; Geldard and Sherrick 1983; Eimer et al. 2005; Flach and Haggard 2006*).

I parametri di stimolazione non sono gli unici determinanti della percezione degli stimoli somministrati. Molti ricercatori hanno dimostrato che la percezione dello stimolo illusorio è influenzato da biases attenzionali dei soggetti e dalle istruzioni che vengono date ad essi (*Kilgard MP, Merzenich MM (1995) Flach R, Haggard P (2006); Goldreich D (2007)*).

Per evitare questi biases attenzionali il gruppo di Eimer ha sviluppato un protocollo in cui ai soggetti veniva richiesto di focalizzare la loro attenzione sul sito in cui lo stimolo illusorio doveva essere percepito (L2) (*Eimer et al.2005*). Venivano quindi somministrati 4 treni di stimoli e la quantificazione della percezione dello stimolo in L2 poteva essere utilizzato come parametro della presenza e della relativa potenza dell'effetto di saltazione.

Oltre al classico treno inducente la saltazione "illusoria" (illusory rabbit: IR) venivano anche somministrati treni di stimoli che inducessero una saltazione "reale"(veridical rabbit: VR), il Bias di Movimento (Motion Bias) e una stimolazione di controllo(Static Control Train). Considerati i punti classici degli esperimenti di

Geldard sull'avambraccio: L1, in posizione più prossimale cioè vicino al gomito, stimolato in un tempo t_1 viene definito il lo stimolo localizzatore, ovvero quello che stabilisce l'origine spaziale e temporale del treno di stimolazione; il secondo stimolo in L1 a un tempo t_2 , è definito lo stimolo attratto. Il terzo stimolo in L3 (sito distalmente ad L1 di circa 10 cm) in un tempo t_3 è considerato lo stimolo attrattore. Durante una saltazione reale non c'è alcuna illusione: il secondo stimolo (L2) viene somministrato in un tempo (t_2) ed in un sito intermedio rispetto a L1 ed L3. Nel Motion Bias il secondo stimolo della sequenza viene somministrato in L3, mentre nello Static Control Train i tre stimoli vengono somministrati nei tre tempi ($t_1-t_2-t_3$) nella posizione L1.

In questo paradigma sperimentale ci si attende che L2 sia percepito più vicino nel treno di saltazione reale in quanto lo stimolo viene somministrato proprio in quella posizione. Il treno che induce la saltazione illusoria ci si aspetta che induca la percezione di uno stimolo in L2, sebbene esso non sia reale, tanto quanto il treno "reale". Né il Motion Bias né lo Static Control Train devono indurre una percezione illusoria. (Fig.1)

Questi treni di stimolazione nelle quattro modalità descritte sono state effettuate dagli autori su un braccio e nella condizione incrociata su entrambe le braccia.

Durante l'esecuzione di ogni treno veniva richiesto ai soggetti di focalizzare l'attenzione sul sito L2. Nell'80% delle stimolazioni secondo il paradigma di saltazione illusoria c'era la percezione di uno stimolo in L2, mentre nel Motion Bias Train solo il 40% e in meno del 20% nello Static Control Train. Quando L1 ed L3 erano posizionati su braccia diverse non c'era alcuna differenza nella percezione di uno stimolo in L2 tra la saltazione illusoria e il Motion Bias Train.

In un recente studio (Warren JP et al 2010) gli autori hanno riprodotto il fenomeno della saltazione su aree cutanee non contigue, ovvero sui polpastrelli della mano attraverso la somministrazione di stimoli elettrotattili. Anche in questo esperimento ai soggetti veniva richiesto di focalizzare l'attenzione sul sito medio di stimolazione all'avambraccio (L2) oppure al terzo dito (D3) (sede della presupposta percezione illusoria) utilizzando i quattro paradigmi di stimolazione precedentemente utilizzati da Eimer (Illusory Rabbit, Veridical Rabbit, Motion Bias Train, Negative Control Train), differendo però da questi ultimi per l'introduzione di un quarto punto di stimolazione (L4 per l'avambraccio e D4 per la mano). I risultati ottenuti dalle quattro modalità di stimolazione hanno dimostrato una maggiore percezione dello stimolo in L2 ed in D3 durante la stimolazione illusoria rispetto al Motion Bias. Tali risposte erano fortemente accentuate a livello dell'avambraccio (circa il 90% delle risposte) e si riducevano drasticamente a livello delle dita.

Come infatti precedentemente descritto da Eimer et al e Blankenburg et al il fenomeno di saltazione risulta più accentuato se effettuato su aree cutanee contigue e lungo una direzione preferenziale all'interno dello stesso dermatomero, inoltre dalle riflessioni di Goldreich et al 2007 la saltazione è meno pronunciata nelle zone cutanee con alta acuità tattile.

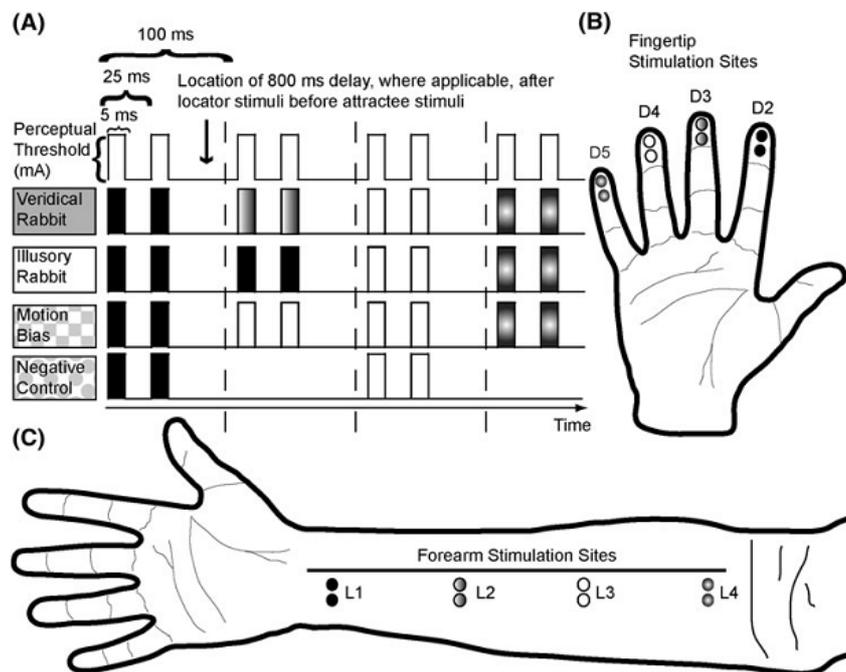


Fig.1 Da “Electrotactile stimuli delivered across Fingertips inducing the Cutaneous Rabbit Effect”, Warren JP a) schema delle 4 modalità di stimolazione, b) posizionamento degli elettrodi sulle dita, c) posizionamento degli elettrodi lungo l'avambraccio

In un recente studio Blankenburg e coll. hanno studiato l'attivazione corticale tramite fMRI a 3 Tesla durante la riproduzione del fenomeno di saltazione tramite stimoli elettrici sull'avambraccio in tre condizioni sperimentali : 1) Illusory Rabbit (IR) in cui venivano

stimolati i classici siti per indurre il fenomeno saltatorio, 2) Veridical Rabbit (VR) in cui si stimolava anche un punto centrale sede dell'illusione e Control (C) in cui si stimolavano tre punti in sequenza tale da non indurre alcun fenomeno illusorio.(Fig.2)

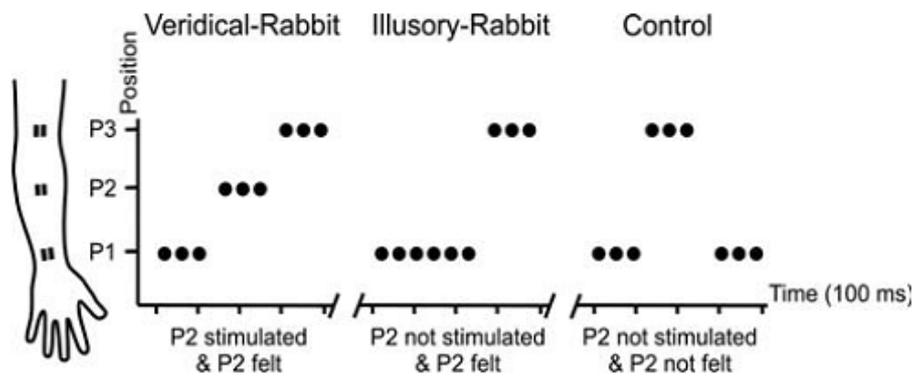


Fig.2 Da Blankenburg F et al. The Cutaneous Rabbit Illusion Affects Human Primary Sensory Cortex Somatotopically. Plos Biology 4(3):e69. Schema delle modalità di stimolazione

Gli autori si sono innanzi tutto chiesti se ci fossero delle aree maggiormente attivate dalle sequenze IR e VR rispetto a C. L'analisi congiunta ha rivelato che soltanto un'area all'interno dell'area somatosensitiva primaria (S1) di destra, ovvero il giro postcentrale di destra, mostrava un'attività elevata in modo significativo nelle sequenze IR e VR. Il 75% di tale attivazione era dovuta con molta probabilità all'Area di Broadmann 1 sita nella S1.(Fig.3 e 4)

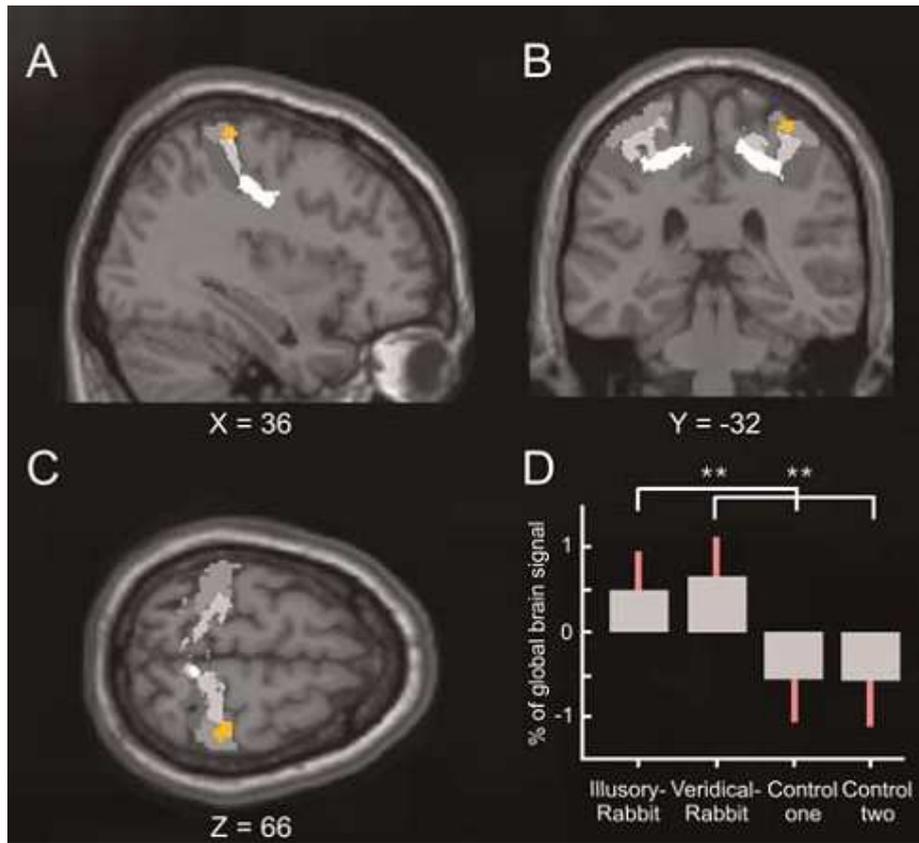


Fig. 3 Da Blankenburg F et al. The Cutaneous Rabbit Illusion Affects Human Primary Sensory Cortex Somatotopically. Plos Biology 4(3):e69. Attivazione della stessa area per VR e IR rispetto a C

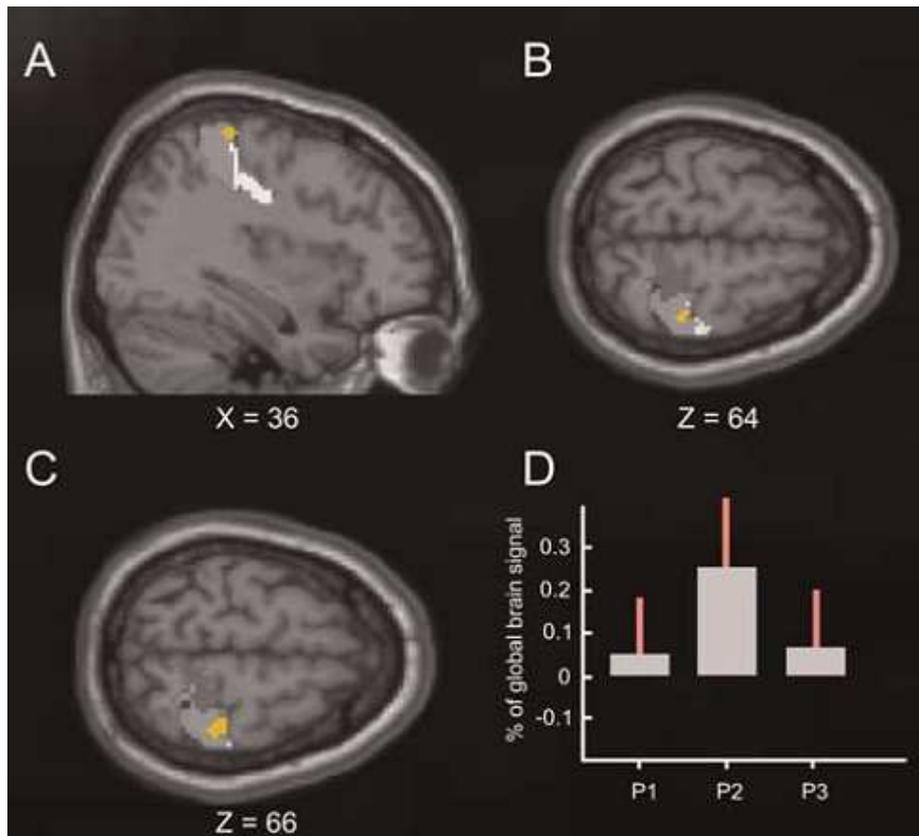


Fig. 4 Da Blankenburg F et al. The Cutaneous Rabbit Illusion Affects Human Primary Sensory Cortex Somatotopically. Plos Biology 4(3):e69. Attivazione delle aree cutanee per P1,P2,P3 per VR e IR

Secondo recenti teorie (Wiemer et al 2000), principalmente fondate su studi su scimmie con applicazione di stimoli riguardanti funzioni monomodali, si ritiene che la qualità temporale degli eventi venga elaborata tramite l'attivazione sequenziale di sedi corticali vicine. Tale attivazione originerebbe dalle specifiche cellule corticali stimulate dagli impulsi sensoriali e si diffonderebbe a quelle vicine tramite un meccanismo ondulatorio concentrico garantito dalle connessioni interneuronali. La percezione della successione degli eventi sarebbe codificata a livello corticale in termini spaziali. Più in dettaglio la

collocazione temporale degli stimoli verrebbe determinata dalla particolare configurazione della confluenza dei fronti d'onda originati dalle aree corticali di rappresentazione delle regioni cutanee stimulate in successione. I risultati degli studi di plasticità della corteccia somatosensoriale nei primati dimostrarono infatti che la variabile temporale (valutata tramite apprendimento di stimoli presentati in successione) determina un peculiare riarrangiamento delle mappe sensoriali. (Fig.5) Mentre stimoli presentati sincronicamente su regioni diverse hanno una rappresentazione corticale integrata (nella stessa area corticale); stimoli asincroni (con intervallo interstimolo di 200-300 msec) hanno una rappresentazione corticale segregata (in zone corticali distanti) (Spengler et al 1996). Tale modulazione plastica rappresenta una proprietà squisitamente corticale poiché Wang et al (1995) in uno studio di riorganizzazione plastica nel talamo posteriore, non hanno evidenziato una riorganizzazione equivalente a quella riscontrata da Spengler et al (1996) a livello corticale pur utilizzando un analogo set sperimentale.

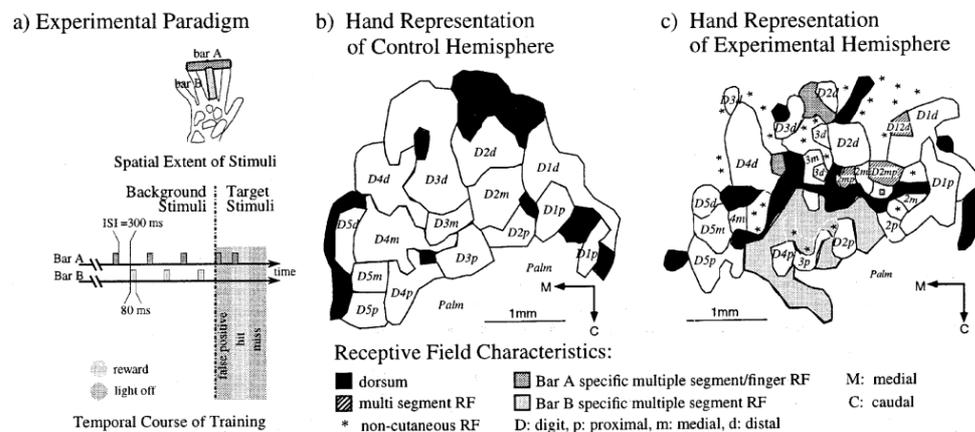


Fig.5 Da Wiemer J e coll. Learning cortical topography from spatiotemporal stimuli. Biol. Cybern. 82, 173±187 (2000). Esperimento neurobiologico. Le scimmie erano

addestrate alla discriminazione spaziale di due stimoli tattili sovrapposti (\bar{A} , \bar{B}) che erano applicate in modo alternato e separate da ISI 300 ms (a). Dopo il training le cortecce sensitive primarie venivano mappate elettrofisiologicamente: in b) l'emisfero di controllo, in c) l'emisfero sperimentale che rivela riorganizzazioni stimolo-specifiche

Secondo un ulteriore approfondimento della teoria ondulatoria proposto da Bonafede nel 2001, la ripetizione degli stimoli in successione agirebbe tramite la generazione di campi di facilitazione corticale unidirezionali detti “valvole temporali” che identificano la sequenzialità degli eventi. La sede in cui avvengono gli effetti plastici sarebbe situata in un punto intermedio tra la sede di proiezione corticale del primo stimolo e quello del secondo e produrrebbe un effetto memoria potenziando anche momentaneamente la conduttività elettrica del tessuto cerebrale dalla sede del primo stimolo a quello del secondo.

Obiettivi:

Col presente studio ci siamo proposti di valutare gli effetti plastici della ripetizione di sequenze di stimoli sensoriali in soggetti volontari sani.

L'ipotesi è che il cervello possa memorizzare la successione temporale solo traducendola in termini spaziali sulla base dei modelli proposti da Wiemer e Bonafede. In accordo con tali modelli il risultato che ci attendevamo era che la somministrazione ripetuta di coppie di stimoli sensoriali dovesse produrre effetti plastici corticali in grado di codificare l'esatta successione dei due stimoli, con una facilitazione unidirezionale che dovrebbe potenziare la percezione del secondo stimolo della coppia. Ci attendevamo inoltre che qualunque intervento in grado di modificare le proprietà di diffusione dell'attivazione corticale (come un aumento od una riduzione dell'eccitabilità) dovesse necessariamente alterare la plasticità connessa alla percezione delle sequenze temporali, modificando le risposte ad un test sensibile come per esempio quello dell'illusione saltatoria.

Materiali e Metodi

Il campo di indagine scelto è quello della sensibilità cutanea, esaminata su un totale di 38 soggetti volontari sani: 20 M, 18F; età media 30,2 +/- 4,1 anni, suddivisi in 32 soggetti per l'Esperimento 1 e Esperimento 3, e 38 per l'Esperimento 2. La stimolazione sensitiva è stata effettuata su due punti diversi della cute sulla superficie volare dell'avambraccio dx (Fig.6).



Fig.6

Abbiamo utilizzato stimoli sensitivi elettrici (impulsi ad onda quadra della durata di 100 microsec) erogati da un neurostimolatore a corrente costante tramite elettrodi di superficie applicati sui due punti di stimolazione che erano posti a distanza di circa 5 cm l'uno dall'altro (A, B vedi fig.1). La soglia sensitiva è stata valutata tramite la metodica dei limiti (Fechner GT 1860). Al fine di valutare gli effetti di facilitazione legati alla sequenza temporale abbiamo studiato le variazioni di capacità percettiva indotte dalla ripetizione di coppie di stimoli sensoriali sugli stessi punti (condizionamento). La capacità percettiva è stata analizzata attraverso la soglia sensitiva misurandone le variazioni sui punti A e B dopo il condizionamento (esperimento 1) o esplorando un altro parametro, spesso impiegato negli studi psicofisici, consistente nella

valutazione dell'intervallo minimo necessario per percepire come distinti i due stimoli (soglia di discriminazione temporale: SDT) (esperimento 2). L'assunto era in tal caso che se un meccanismo di facilitazione si verifica in relazione alla sequenza, allora poteva aumentare la capacità di discriminazione temporale specificamente in tale direzione e nessun effetto si poteva attendere invertendo la sequenza di condizionamento. Il condizionamento è stato effettuato, dopo la valutazione basale in tutte le condizioni, tramite coppie di stimoli, ad intensità pari al 120% della soglia sensitiva ripetute 40 volte per ogni direzione di stimolazione (A->B, B->A) con frequenza media di 1 Hz (range $1 \pm 0,1$ Hz per evitare fenomeni di abituazione). L'intervallo temporale tra gli stimoli della coppia (ISI) era invece fisso. Tre diversi ISI: 50, 100 e 200 msec sono stati esaminati per ogni condizione. Le prove di condizionamento sono state ripetute a distanza di almeno 2 ore l'una dall'altra. Per ogni esperimento i soggetti hanno partecipato a sei sessioni (2 direzioni di stimolazione x 3 ISI).

Sulla base dei risultati ottenuti abbiamo eseguito un'ulteriore valutazione (esperimento 3) per esaminare più specificamente quanto gli effetti di facilitazione interessassero l'area di rappresentazione intermedia tra i punti stimolati indipendentemente dalla posizione assoluta delle sedi di stimolazione. A tal fine abbiamo modificato le posizioni degli elettrodi utilizzate per il condizionamento rispetto quelle impiegate per il test avendo però cura di far sì che tali vettori condividano una posizione intermedia, con un arrangement ad X(fig.7)

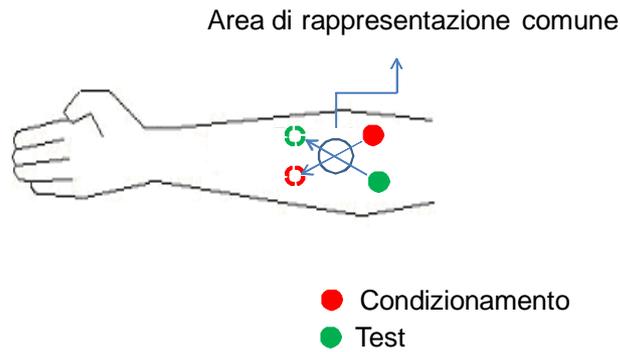


Fig.7: Posizione dei vettori nell'Esperimento 3

In questo esperimento abbiamo utilizzato gli stessi parametri di condizionamento impiegati nei precedenti esperimenti, studiando però solo l'ISI 100 ms (l'unico in grado di dare risultati significativi) valutando sia gli effetti sulla soglia sensitiva che sull'SDT. Al fine di evitare effetti aspecifici per posizione dei vettori abbiamo anche ripetuto l'esperimento cambiando vettore di test e condizionamento per un totale di 8 sessioni di stimolazione (2 direzioni di stimolazione x 2 posizioni dei vettori x 2 modalità di valutazione: soglia sensitiva, SDT). L'ordine delle sessioni è stato randomizzato e bilanciato tra i soggetti.

Esperimento di modulazione

E' stato condotto infine un esperimento di modulazione dell'eccitabilità corticale tramite la stimolazione transcranica a correnti dirette (tDCS) (esperimento 4).

Abbiamo utilizzato uno stimolatore Magstim® Eldith DC-stimulator (Model No. 0008, serial- no: 0100M, neuroConn GmbH®, Ehrenbergstr.11, 98693 Ilmenau, Germany) e posizionato i due elettrodi

all'interno di due spugne (superficie di 16,3 cm² per ogni elettrodo) imbevute di soluzione salina (soluzione salina normale con 9.0 mg NaCl/litro). Un elettrodo era posizionato su C3 (2 cm posteriormente a C3 (10–20 EEG system) e l'altro elettrodo sulla fronte nella zona sovraorbitaria contro laterale. La proiezione di questo punto corrisponde alla corteccia somatosensitiva primaria. Gli elettrodi stimolanti erano fissati tramite bande elastiche.(Fig.8)



Fig. 8 Stimolatore per correnti continue ed esempio di posizionamento degli elettrodi sullo scalpo

La densità di corrente era settata a 1 mA, le sessioni di tDCS anodica e catodica duravano 20 minuti. La densità di corrente era quindi di 0,06 mA/cm². La corrente saliva lentamente fino a raggiungere il livello fissato in 8 sec.(ramping).

Abbiamo anche eseguito stimolazioni fittizie (sham) come controllo per le due polarità. In queste la corrente era mantenuta fino alla fine del ramping, quindi interrotta. In tali condizioni il soggetto percepisce come

per la stimolazione reale una lieve parestesia sull'area stimolata durante il ramping e non è in grado di discriminare se dopo tale fase la stimolazione continua o è interrotta.

E' stata utilizzata come outcome la SDT impiegando lo stesso paradigma dell'esperimento 3 (fig. 7) con ISI di condizionamento di 100 msec. La SDT è stata quindi valutata in basale nelle due direzioni A→B e B→A e post condizionamento prima, durante tDCS (a 10 minuti dall'inizio della stimolazione) e al termine della stimolazione (20 minuti).

In questo esperimento sono stati arruolati 10 ulteriori soggetti sani (5M e 5F, età media $31,5 \pm 2$ aa) che sono stati sottoposti alle sedute di tDCS anodica, catodica e sham-anodica e -catodica con ordine random e con una distanza fra una seduta e l'altra di almeno 48 ore.

Appendice 1: tDCS

La tDCS è una metodica non invasiva in grado di modulare i potenziali di membrana dei neuroni corticali, e quindi potenzialmente di modificare la funzione di aree corticali anche per alcune ore. La metodica è stata messa a punto circa dieci anni fa (*Nitsche MA, Paulus W.2000; Wassermann EM, et al 2005*), e sta conquistando uno spazio sempre più ampio, sia come strumento di ricerca neurofisiologica sul sistema motorio che in campo cognitivo, in un numero crescente di centri clinici e di ricerca in tutto il mondo.

Mediante la tecnica della tDCS è possibile modulare l'eccitabilità corticale applicando deboli correnti elettriche allo scalpo tramite una coppia di elettrodi. Queste correnti modificano i potenziali di membrana dei neuroni corticali e aumentano o diminuiscono la funzionalità dell'area stimolata. L'aumento o la diminuzione di attività dipendono dalla polarità di stimolazione (la stimolazione anodica aumenta l'attività corticale, la stimolazione catodica la diminuisce) (*Priori A, et al 1998; Nitsche MA, Paulus W. 2001*). La metodica si basa sull'uso di uno stimolatore elettrico, che fornisce un'unità di corrente costante ed una di isolamento, connesse ad una coppia di elettrodi costituiti da una spugna sintetica di ampia superficie (35 cm²) e rivestiti da soluzione salina per aumentare la conduttività, in modo da evitare effetti dolorosi causati dall'applicazione di corrente.

Gli unici effetti collaterali riportati, tutti considerati "minori", sono fino ad oggi:

- sensazione di formicolio durante la stimolazione, seguito da sensazione di affaticabilità
- prurito o lieve sensazione di bruciore nella zona di applicazione degli elettrodi durante la stimolazione
- mal di testa transitorio dopo la stimolazione
- nausea transitoria dopo la stimolazione
- arrossamento transitorio della pelle dopo la stimolazione.

Sebbene siano più conosciuti gli effetti della tDCS sulle aree motorie e ben poco sappiamo dei suoi effetti sulle aree somatosensoriali, in un recente lavoro (Ragert et al. 2008) è stata esplorata la potenzialità della corrente anodica a 1 mA sulla corteccia somatosensitiva primaria (S1) di indurre un miglioramento dell'acuità tattile sul dito indice controlaterale al sito cerebrale di stimolazione. I risultati ottenuti hanno mostrato un miglioramento nelle performances del dito controlaterale (valutate tramite l'utilizzo di uno strumento che proponeva il riconoscimento di superfici con diversi rilievi: il Grating Orientation Task (Van Boven and Johnson, 1994) e non di quello ipsilaterale che duravano fino a 40 minuti dopo la stimolazione anodica di S1.

Analisi Statistica:

Per la valutazione statistica è stato utilizzato il test ANOVA per misure ripetute e il Duncan's multiple range test per le valutazioni post-hoc

Risultati:

Esperimento 1

La soglia sensitiva media era di 13 mA +/- 2,3 SD per A e 14,8 mA +/- 3,1 SD per B; dopo condizionamento gli effetti di facilitazione potevano osservarsi significativamente solo per l'ISI 100 ms e apparivano in relazione con la direzione della sequenza. L'ANOVA per misure ripetute con posizione (2 livelli: A, B) e condizioni (7 livelli: Basale, Condizionamento A→B e B→A a 50, 100, 200 msec ISI) come fattori intra-soggetto, evidenziava main factor significativi per: posizione $F(1,31)=6,76$; $p<.005$; condizioni $F(6,186)=17,13$ $p<.0001$ e interazione posizione per condizioni $F(6,186)=5,10$; $p<.0001$. L'analisi del post-Hoc evidenziava una significativa riduzione della soglia in B per la direzione di condizionamento A →B per ISI 100 msec ($p<.01$) ed una riduzione significativa della soglia in A per ISI 100 msec ($p<.01$) per la direzione di condizionamento opposta B→A.(graf 1A-1B).

Esperimento 2

L'ANOVA per misure ripetute con direzione (2 livelli: A→B, B→A) e condizioni (4 livelli: Basale, Condizionamento ISI 50,100,200 msec) come fattori intra-soggetto evidenziava main effect significativo per i

fattori: direzione $F(1,37)=7,19$; $p<.05$; condizioni $F(3,111)=22,18$; $p<.0001$. L'analisi post-Hoc mostrava una modificazione della SDT in relazione alla direzione della sequenza condizionante: ridotta SDT nella sequenza $A \rightarrow B$ per condizionamento $A \rightarrow B$ ($p<.001$) e reciprocamente ridotta SDT nella sequenza $B \rightarrow A$ per condizionamento $B \rightarrow A$ ($p<.001$).

Anche in questo caso l'effetto direzionale era significativo solo per l'ISI 100 ms. (graf.2)

Esperimento 3

A: Soglia Sensitiva $A \rightarrow B$ e $B \rightarrow A$

L'ANOVA per misure ripetute con direzione (2 livelli: $A \rightarrow B$, $B \rightarrow A$), condizione (2 livelli: basale, 100 msec), posizione (2 livelli: A,B) ha mostrato un significativo main effect per il fattore posizione $F(1,31)=51,81$; $p<.0001$ e per le interazioni direzione-condizione $F(1,31)=7,41$; $p<.05$; direzione-posizioni $F(1,31)=4,53$; $p<.05$ e direzione per condizioni per posizioni $F(1,31)=23,13$; $p<.0001$. L'analisi post-Hoc evidenziava una significativa riduzione della soglia per ISI 100 msec sul vettore test nella direzione di condizionamento, $p<.01$.(graf. 3A-B)

B: SDT

Anche in quest'ulteriore esperimento i risultati dimostravano una significativo miglioramento della capacità percettiva sia come soglia

sensitiva che come SDT nella direzione della sequenza di stimolazione. L'ANOVA per misure ripetute con direzione (2 livelli: $A \rightarrow B$ e $B \rightarrow A$) e condizioni (2 livelli: basale, ISI 100 msec) come fattori intra-soggetto dimostrava un significativo main effect di entrambi i fattori: Direzione $F(1,31)=7,25; p<.05$; Condizioni $F(1,31)=33,88; p<.0001$. L'analisi post-Hoc evidenziava una significativa riduzione della SDT secondo la direzione di stimolazione sul vettore test sia per la direzione $A \rightarrow B$ che per $B \rightarrow A$ (graf.5 a-b-c); l'effetto era riproducibile scambiando vettore di test e di condizionamento. (graf.3C)

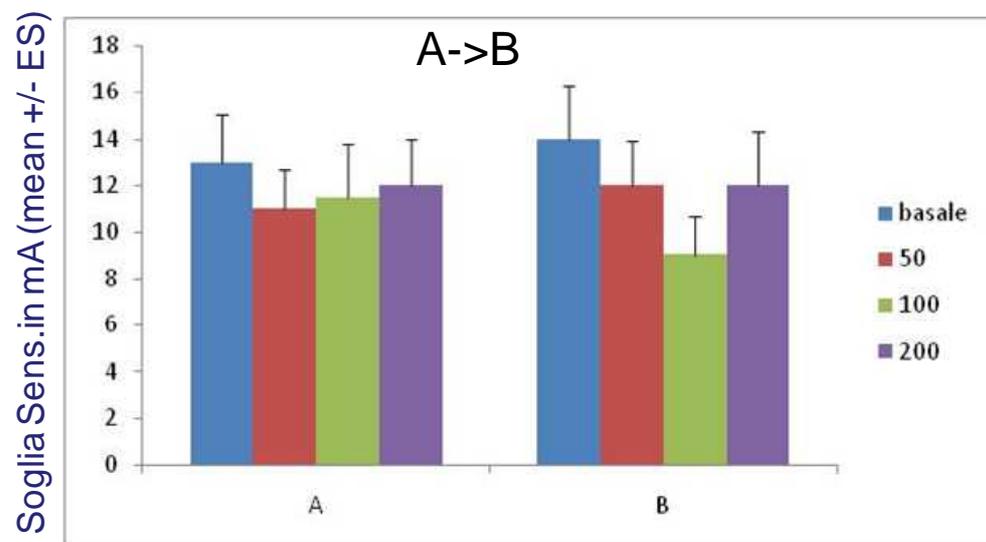
Esperimento 4: modulazione con tDCS

L'ANOVA per misure ripetute con polarità (4 livelli: tDCS anodica, catodica, sham anodica, sham catodica), tempi (3 livelli: pre-tDCS, tDCS 10 min, tDCS 20 min), condizioni (2 livelli: pre e post-condizionamento) e direzione (2 livelli: $A \rightarrow B, B \rightarrow A$) come fattori intra-soggetto, evidenziava un main effect significativo per i fattori polarità $F(3,27)=15,55 p<,0001$ e condizioni $F(1,9)=17,01; p<,0026$ e per le interazioni polarità per tempi $F(6,54)=2,38; p<,0408$; polarità per condizioni $F(3,27)=3,59; p<,0264$; tempi per direzione $F(2,18)=12,26; p<,0004$; polarità per tempi per condizioni $F(6,54)=13,88; p<,0001$; polarità per tempi per direzione $F(6,54)=6,30; p<,00001$; polarità per condizione per direzione $F(3,27)=5,92; p<,0031$; tempi per condizione per direzione $F(2,18)=11,63; p<,0006$ e polarità per tempi per condizione per

direzione $F(6,54)=9,16$; $p<,00001$; l'analisi post-hoc evidenziava una significativa riduzione di SDT ($p<.01$) dopo condizionamento (in analogia a quanto osservato nei precedenti esperimenti); durante tDCS, a 10 min dall'inizio della stimolazione, la corrente anodica determinava un'ulteriore significativa riduzione di SDT (tDCS con condizionamento vs basale con condizionamento: $p<.01$) mentre la corrente catodica annullava l'effetto di riduzione di SDT indotto dal condizionamento (tDCS con condizionamento vs basale con condizionamento: $p<.001$) (graf.4 A-B); la sham non induceva alcuna modificazione significativa sugli effetti del condizionamento.

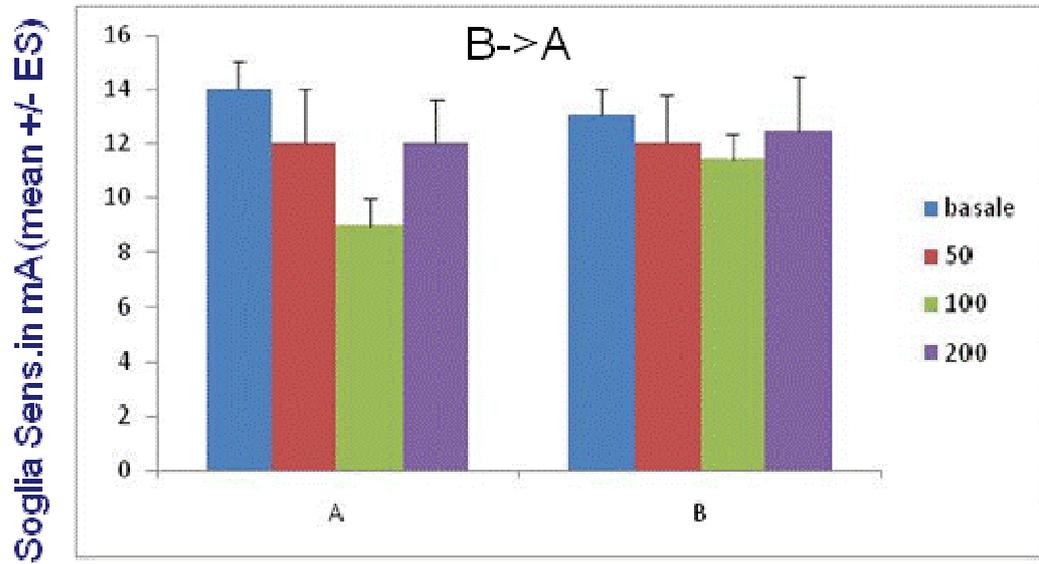
Grafici

Grafico 1A



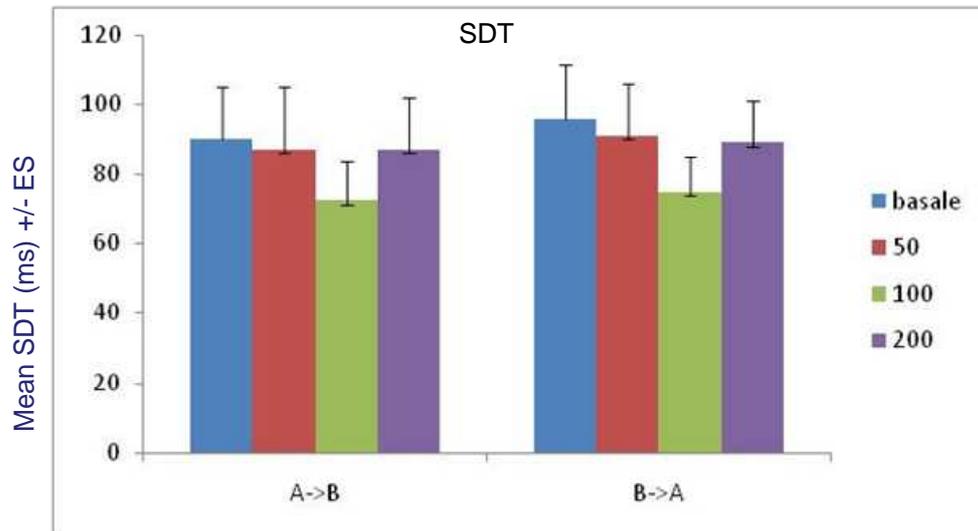
Esperimento 1: Variazione di soglia sensitiva in A e B dopo condizionamento in direzione A->B a diversi ISI

Grafico 1B



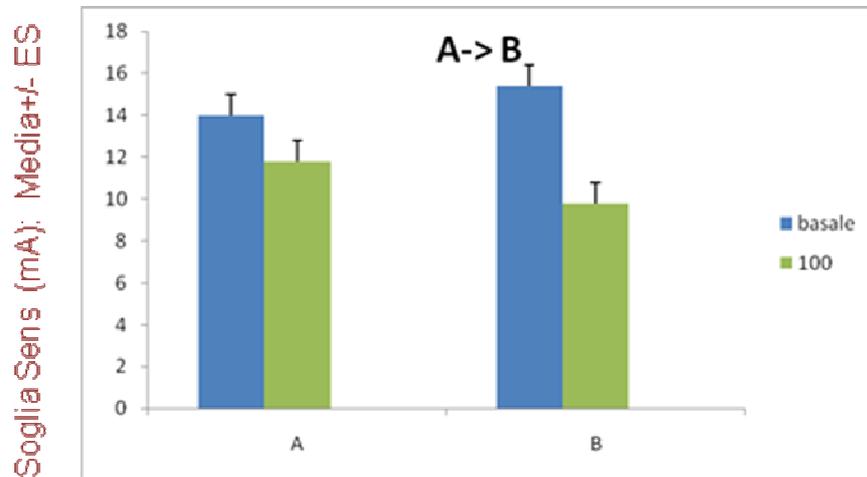
Esperimento 1: Variazione di soglia sensitiva in A e B dopo condizionamento in direzione B->A a diversi ISI

Grafico 2



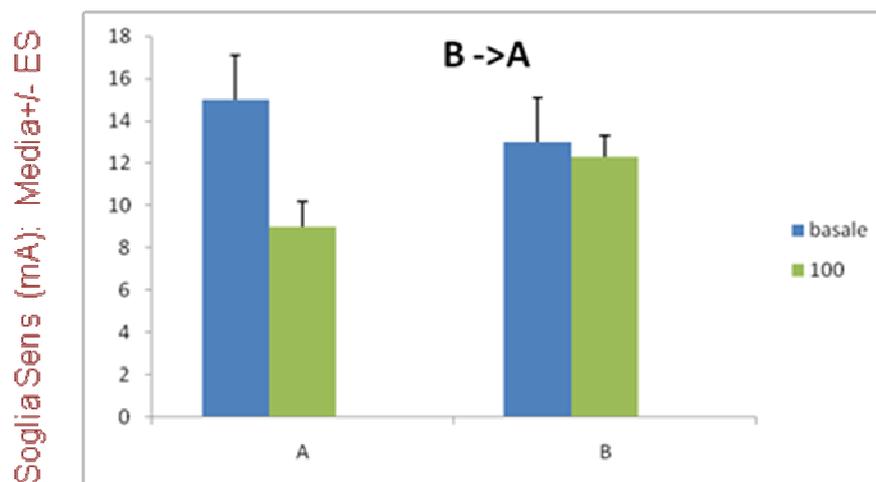
Esperimento 1:Variazione di SDT dopo condizionamento in direzione A->B e B->A

Grafico 3 A



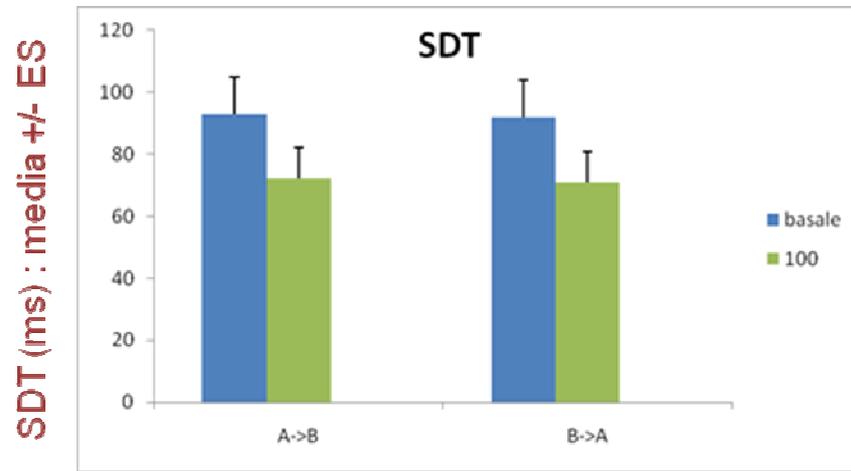
Esperimento 3: Variazione di soglia sensitiva dopo condizionamento in direzione A->B (ISI 100 ms)

Grafico 3 B



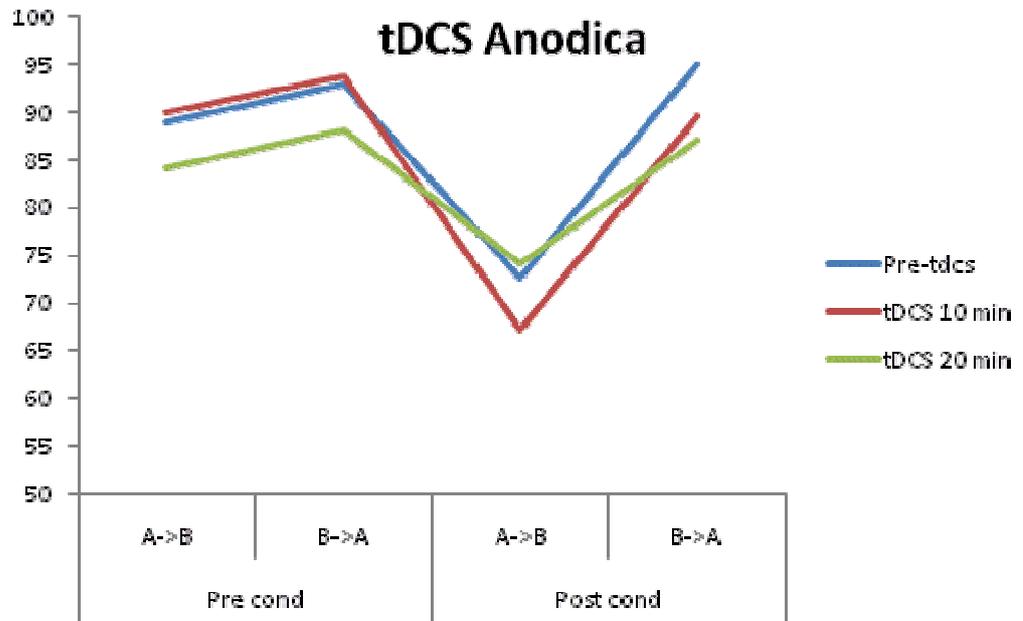
Esperimento 3: Variazione di soglia sensitiva dopo condizionamento in direzione B->A (ISI 100 ms)

Grafico 3C



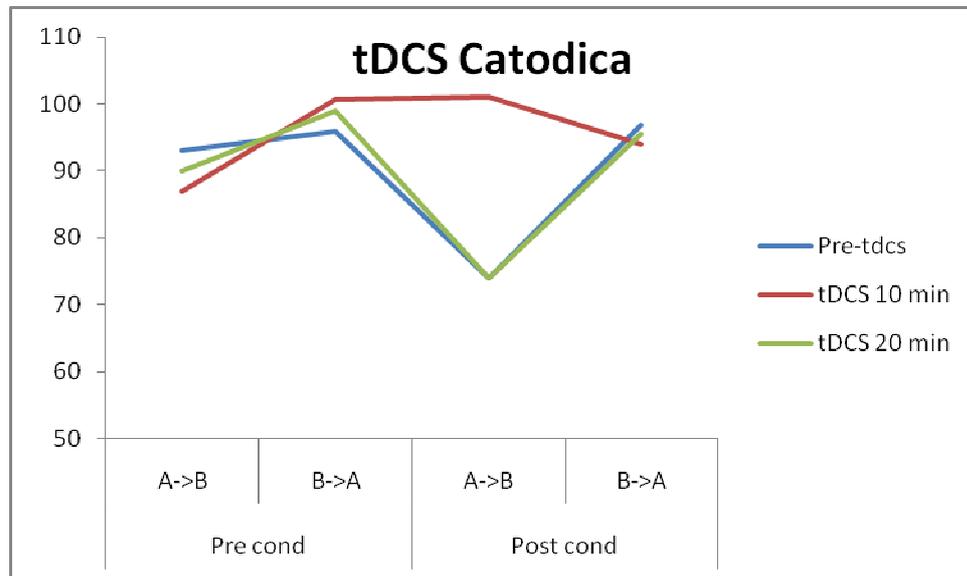
Esperimento 3:Variazione di SDT dopo condizionamento in direzione A->B e B->A(ISI 100 ms)

Grafico 4A



Esperimento 4: valori medi di SDT con e senza condizionamento ($A \rightarrow B$, $B \rightarrow A$) prima, durante (10 min) e dopo stimolazione (20 min) stimolazione con tDCS anodica sull'area sensitiva S1

Grafico 4 B



Esperimento 4: valori medi di SDT con e senza condizionamento ($A \rightarrow B$, $B \rightarrow A$) prima, durante (10 min) e dopo stimolazione (20 min) stimolazione con tDCS Catodica sull'area sensitiva S1

Discussione.

Negli ultimi anni è aumentato l'interesse delle neuroscienze verso il problema della percezione del tempo. Sono stati condotti molti studi con l'intento di chiarire come possano essere percepiti simultanei eventi che di fatto non lo sono; uno stesso stimolo giunge alla coscienza utilizzando diversi canali sensoriali i quali hanno peculiari tempi di trasmissione, ma nonostante questa diversità viene percepita sincronicità fra di essi. Un altro aspetto importante evidenziato dalle ricerche sulla percezione del tempo è quanto essa sia caratterizzata da plasticità e l'influenza su di essa dello stato emozionale del soggetto. Un altro aspetto indagato in tal proposito è quello concernente la capacità di discriminazione degli intervalli di tempo. Un punto comunque cruciale è come faccia il nostro cervello a percepire la corretta percezione temporale degli eventi, cioè a discriminare le sequenze.

Sebbene dunque diversi studi abbiano affrontato le problematiche pertinenti la percezione temporale, questa è stata valutata soprattutto come capacità di discriminare tra intervalli temporali nell'ipotesi che un'area o un circuito di aree siano specificamente coinvolte nella percezione del tempo e nella cronometria degli eventi. Tuttavia, un aspetto critico non solo per la precisa collocazione temporale ma anche e soprattutto per una efficace ed articolata organizzazione delle funzioni e dell'attività degli aggregati neurali, e principalmente di quelli con maggiore capacità computazionale come la corteccia cerebrale, è rappresentato dalla

capacità di discriminare le sequenze, di effettuare cioè un preciso sequenziamento temporale delle attività in ingresso o in uscita.

Il lavoro sperimentale oggetto della presente tesi esplora tale aspetto attraverso la capacità di percepire sequenze di stimoli sensitivi in soggetti umani normali, valutando in particolare l'ipotesi che la discriminazione sequenziale possa basarsi su peculiari meccanismi di facilitazione unidirezionale che codifichino la corretta percezione della successione degli stimoli.

Nel nostro studio abbiamo esplorato in particolare questo aspetto valutando la discriminazione delle sequenze temporali attraverso la somministrazione di stimoli sensitivi asincroni. Due out come sono stati esplorati in particolare: la modificazione della soglia di sensibilità e la capacità di discriminazione temporale tra due stimoli. I risultati dello studio dimostrano per entrambi gli out come un meccanismo di facilitazione dovuto alla ripetizione di coppie di stimoli sensitivi soltanto quando la direzione degli stimoli priming (condizionamento) coincideva con la direzione della coppia test. Infatti nel primo esperimento abbiamo evidenziato una riduzione significativa della soglia sensitiva del secondo stimolo della coppia. Non è ben chiaro il motivo per il quale gli effetti siano stati evidenti in modo significativo soltanto con l'ISI di condizionamento a 100 msec. Nel secondo esperimento abbiamo utilizzato un parametro meno utilizzato negli studi psicofisici: la SDT, riscontrando comunque una riduzione nella SDT fra i due punti stimolati

nella direzione del condizionamento, che manteneva significatività soltanto all'ISI 100 msec. Non vi sono dati in letteratura circa l'utilizzo della SDT con parametri di stimolazione simili.

Nel complesso i risultati supportano l'ipotesi che esistono meccanismi di facilitazione unidirezionali, probabilmente conseguenti a pattern spaziali di attivazioni corticali come proposti da Bonafede e Wiemer, che possono garantire la corretta percezione delle sequenze. Sulla base dei dati psicofisici non è possibile dirimere a quale livello operino realmente questi meccanismi di facilitazione. A tal fine abbiamo valutato gli effetti di modulazione corticale su tali fenomeni. Per quanto riguarda gli esperimenti di modulazione corticale abbiamo ottenuto un effetto di facilitazione della SDT dalla stimolazione anodica su S1 nella direzione del condizionamento, mentre la stimolazione catodica, che determina un'inibizione dell'attività corticale, ha mostrato in modo particolarmente evidente un effetto di interferenza sulla performance.

Questo effetto comunque appare specifico perché la procedura di controllo con la tDCS sham non è stata in grado di evidenziare alcun tipo di modulazione. Per quanto riguarda la durata degli effetti indotti dalla tDCS abbiamo osservato che gli effetti modulatori si evidenziano soprattutto durante la stimolazione (a dieci minuti) e vengono meno assai rapidamente al termine di questa. Per quanto attiene gli effetti della tDCS sulla percezione sensitiva, l'unico studio in letteratura è quello di Raegert e coll. che hanno studiato un diverso compito di discriminazione tattile a

livello delle dita, che ha riscontrato un effetto facilitatorio sul compito indotto dalla stimolazione anodica che perdurava fino a 40 minuti successivi alla sospensione dell'erogazione della corrente . Questa differenza nella durata dell'effetto modulatorio può essere dovuta al fatto che il tipo di elaborazione cognitiva nel nostro studio risultava più complessa.

Nel complesso questi risultati evidenziano meccanismi di facilitazione unidirezionale alla base della capacità di discriminazione delle sequenze temporali. Tali meccanismi sono probabilmente principalmente a genesi corticale poiché le tecniche di interferenza con la stimolazione cerebrale con correnti continue sono in grado di modularli. I meccanismi di facilitazione unidirezionale sono in accordo con quanto evidenziato in letteratura circa i fenomeni dell'illusione saltatoria, che producono una dislocazione dello stimolo percepito in relazione agli intervalli degli stimoli somministrati. La facilitazione direzionale consente però più in generale di spiegare la capacità di discriminazione sequenziale degli eventi basati su modulazioni plastiche che stabiliscono una relazione preferenziale direzionale tra aree corticali attivate sequenzialmente.

E' il concetto delle valvole temporali che postula Bonafede secondo il quale la ripetizione di sequenze di stimoli possa indurre configurazioni di attività neuronali particolari.

Secondo Bonafede ogni modificazione indotta dall'apprendimento ha come conseguenza una modifica a livello sinaptico, nel senso che una

serie di neuroni vanno incontro ad un processo di ipertrofia (intesa come formazione di arborizzazioni dendritiche e di sinapsi) ed aumentano il numero di connessioni e/o il numero di neuroni con cui sono connessi.

La variabile principale nella creazione di zone ipertrofiche è la presenza di due stimoli sensoriali leggermente sfalsati nel tempo. Infatti solo in questo caso le zone ipertrofiche assumono la conformazione geometrica opportuna. Altra variabile (che potenzia il processo) è che il secondo stimolo sia di tipo incondizionato, capace cioè di innescare una risposta fisiologicamente rilevante, verosimilmente di tipo neuromodulatrice.

La forma geometrica di queste ipotetiche zone ipertrofiche provoca delle deviazioni delle onde di eccitazione riuscendo a potenziarle in determinate direzioni. Quindi una zona di cellule neurali ipertrofiche a forma di c (una semicupola se tridimensionale) avrebbe la capacità di esercitare al massimo la sua forza acceleratrice se l'onda incidente proviene dal suo dorso (e con una certa tolleranza a piccole variazioni), ma sarebbe molto specifica nell'indirizzare verso un punto che rappresenta la convergenza delle linee di eccitazione originatesi dalla zona.

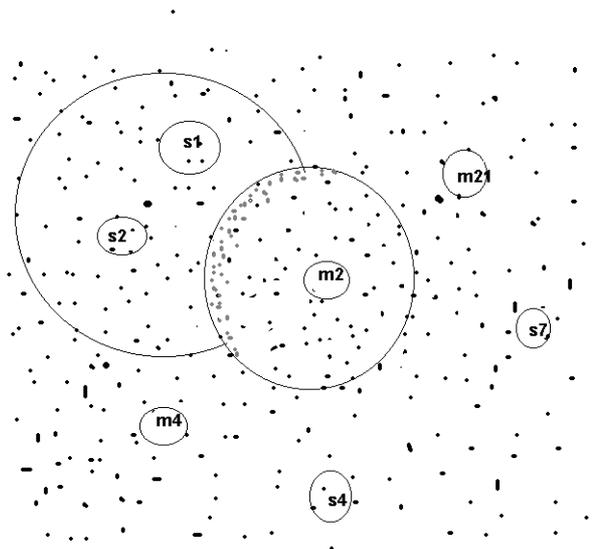


Fig. 9 Ipotetico meccanismo di formazione della valvola temporale: la zona a forma grossolanamente di C (o di semicupola in una rappresentazione tridimensionale) risulta dalla stimolazione contemporanea da parte di due onde concentriche, una con origine in s2 (sede del riflesso condizionato), ed una con origine in m2 (sede del riflesso incondizionato). L'onda concentrica con origine in s2 è stata provocata da una stimolazione sensoriale avvenuta prima e per questo è più grande.

Riguardo al significato neurobiologico della sequenzialità degli stimoli sensoriali Wiemer e coll. ipotizzarono che lo scopo della processazione di uno stimolo sensoriale è quello di indurre una modificazione adeguata del comportamento. Un organismo deve reagire alle modificazioni dell'ambiente in accordo con le sue necessità. Dunque le scale di percezione e comportamento sono connesse una con l'altra. Non c'è dunque alcun vantaggio alla percezione di uno stimolo ad alta risoluzione temporale se questa informazione non viene trasformata in un comportamento. In una rappresentazione degli stimoli efficiente non tutti gli stimoli sono differenziati, bensì sono raggruppati in classi di stimoli con un comportamento rilevante. Quindi le aree corticali

utilizzano forse la vicinanza temporale degli stimoli per formare rappresentazioni efficienti. Stimoli che vengono presentati in un tempo molto ravvicinato possono essere raggruppati nella medesima classe poiché la loro differenziazione in termini comportamentali è irrilevante. L'intervallo interstimolo diviene dunque un criterio essenziale a guidare i processi di segregazione o di aggregazione.

Conclusioni:

I risultati ottenuti con la ripetizione di coppie di stimoli sono in accordo con l'ipotesi della facilitazione unidirezionale. Inoltre, la capacità di disturbare tali meccanismi plastici interferendo con l'attività della corteccia somatosensitiva (SI) tramite la stimolazione elettrica continua transcranica (con correnti catodiche inibitorie) supporta il ruolo critico dell'elaborazione corticale.

Sarebbe opportuno un ulteriore approfondimento dell'argomento con ulteriori test psicofisici ovvero risulterebbe interessante l'esecuzione di studi neuro radiologici (tipo fMRI) online.

Bibliografia:

Bonafede M. Physics of mind 2000

<http://www.kefa.it/physicsofmind/>

Blankenburg F, Ruff CC, Deichmann R, Rees G, Driver J. The cutaneous rabbit illusion affects human primary sensory cortex somatotopically. *PLoS Biol.* 2006 Mar;4(3):e69. Epub 2006 Feb 28.

Bremer CD, Pittenger JB, Warren R, Jenkins JJ. An illusion of auditory saltation similar to the cutaneous "rabbit". *Am J Psychol.* 1977; 90: 645-54.

Cholewiak RW (1999) The perception of tactile distance: influences of body site, space, and time. *Perception* 28:851–875

Eimer M, Forster B, Vibell J. Cutaneous saltation within and across arms: a new measure of the saltation illusion in somatosensation. *Percept Psychophys.* 2005;67:458-68.

Fechner GT (1860) *Elemente der Psychophysik.* Leipzig: Breitkopf an Hartel. p.559

Flach R, Haggard P (2006) The cutaneous rabbit revisited. *J Exp Psychol Hum Percept Perform* 32:717–732;

Geldard FA., Sherrick C E The cutaneous "rabbit": a perceptual illusion. *Science.* 1972 3;178:178-9.

- Geldard FA. The saltatory effect in vision. *Sens Processes*. 1976;1:77-86.
- Geldard F A., Sherrick C E. The cutaneous saltatory area and presumed neural basis. *Percept Psychophys*. 1983; 33:299-304.
- Geldard FA (1977) Cutaneous stimuli, vibratory and saltatory. *J Invest Dermatol* 69:83–87;
- Geldard FA (1980) Cutaneous saltatory areas and intensity. *Bull Psychon Soc* 16:178;
- Geldard FA (1981) Saltatory areas of the skin what determines their limits. *Bull Psychon Soc* 18:55;
- Geldard FA (1982b) Saltation in somesthesis. *Psychol Bull* 92:136–175;
- Geldard FA, Sherrick CE (1983) The cutaneous saltatory area and its presumed neural basis. *Percept Psychophys* 33:299–304;
- Geldard F A., Sherrick C E Space, time and touch. *Sci Am* 1986; 255:90-5.
- Goldreich D (2007) A bayesian perceptual model replicates the cutaneous rabbit and other spatiotemporal illusions. *PLoS One*. 2007 Mar 28;2(3):e333.
- Hirsh IJ, Sherrick CE Jr. Perceived order in different sense modalities. *J Exp Psychol*. 1961 Nov;62:423-32.

Kilgard MP, Merzenich MM (1995) Anticipated stimuli across skin. *Nature* 373:663;

Leisman G, Koch P. Synaptic strengthening and continuum activity-wave growth in temporal sequencing during cognitive tasks. *Int J Neurosci*. 2003;113:181-204.

Nitsche MA, Paulus W. Excitability changes induced in the human motor cortex by weak transcranial direct current stimulation. *J Physiol* 527 Pt 2000;3:633–639.;

Nitsche MA, Paulus W. Sustained excitability elevations induced by transcranial DC motor cortex stimulation in humans. *Neurology* 2001;57:1899–1901. [PubMed: 11723286]

Priori A, Berardelli A, Rona S, Accornero N, Manfredi M. Polarization of the human motor cortex through the scalp. *Neuroreport* 1998;9:2257–2260. [PubMed: 9694210];

Ragert P, Vandermeeren Y, Camus M, Cohen LG. Improvement of spatial tactile acuity by transcranial direct current stimulation. *Clin Neurophysiol*. 2008 Apr;119(4):805-11. Epub 2008 Jan 18

Spengler F, Hielger T, Wang X, Merzenich M, Learning induced formation of cortical populations involved in tactile object recognition. *Soc Neurosci Abstr* 1996; 22: 105

Van Boven RW, Johnson KO. The limit of tactile spatial resolution in humans: grating orientation discrimination at the lip, tongue, and finger. *Neurology* 1994;44:2361–2366. [PubMed: 7991127]

Vicario G B - Il tempo in psicologia, *Le Scienze quaderni* 2002 n.127: 58-65.

Wang X, Merzenich M, Sameshima K, Jenkins W. Remodelling of hand representation in adult cortex determined by timing of tactile stimulation. *Nature* 1995; 378: 71-75.

Warren JP, Santello M, Helms Tillery SI. Electrotactile stimuli delivered across fingertips inducing the Cutaneous Rabbit Effect. *Exp Brain Res.* 2010 Oct;206(4):419-26. Epub 2010 Sep 23.

Wassermann EM, Grafman J. Recharging cognition with DC brain polarization. *Trends Cogn Sci* 2005;9:503–505. [PubMed: 16182596]

Wiemer J, Spengler F., Joublin F., Stagg P., Wacquant S. Learning cortical topography from spatiotemporal stimuli. *Biological Cybernetics* 2000; 82: 173-187