

SOFIA ISABEL RIBEIRO PEREIRA

**ALTERAÇÕES ELETROENCEFALOGRÁFICAS
INDUZIDAS POR ESTIMULAÇÃO TÁTIL DURANTE A
SESTA**

**Curitiba
2016**

SOFIA ISABEL RIBEIRO PEREIRA

**ALTERAÇÕES ELETROENCEFALOGRÁFICAS
INDUZIDAS POR ESTIMULAÇÃO TÁTIL DURANTE A
SESTA**

Tese apresentada como requisito parcial à obtenção do título de Doutora em Biologia Celular e Molecular do Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular, Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Fernando Mazzilli Louzada

**Curitiba
2016**

Universidade Federal do Paraná
Sistema de Bibliotecas

Pereira, Sofia Isabel Ribeiro

Alterações eletroencefalográficas induzidas por estimulação tátil durante a sesta. / Sofia Isabel Ribeiro Pereira. – Curitiba, 2016.
122f. : il. ; 30cm.

Orientador: Fernando Mazzilli

Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular.

1.Sono. 2. Memória. I. Título. II. Mazzilli, Fernando. III. Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular.

CDD (20. ed.) 574.87

Programa de Pós-graduação Biologia Celular e Molecular

Departamento de Biologia Celular
Setor de Ciências Biológicas
Universidade Federal do Paraná



PARECER

A banca examinadora, instituída pelo colegiado do Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular, do Setor de Ciências Biológicas, da Universidade Federal do Paraná, composta por:

Prof. Dr. Fernando Mazzilli Louzada
Orientador e presidente da banca
Universidade Federal do Paraná – UFPR

APROVADO

Prof. Dr. Andre Luiz Felix Rodacki
Universidade Federal do Paraná – UFPR

APROVADO

Profa. Dra. Anete Curte Ferraz
Universidade Federal do Paraná - UFPR

APROVADO

Prof. Dr. Marcelo de Meira Santos Lima
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

APROVADO

Prof. Dr. Bruno Strapasson
Universidade Federal do Paraná – UFPR

Aprovado

Suplentes:

Prof. Dr. Silvio Marques Zanata
Universidade Federal do Paraná – UFPR

Prof. Dr. Bruno Jacson Martynhak
Universidade Federal do Paraná – UFPR

Após arguir a candidata **Sofia Isabel Ribeiro Pereira**, em relação ao seu trabalho intitulado: "Alterações eletroencefalográficas induzidas por estimulação tátil durante a sesta", são de parecer favorável à APROVAÇÃO da acadêmica, habilitando-a ao título de Doutor em Biologia Celular e Molecular.

A obtenção do título está condicionada à implementação das correções sugeridas pelos membros da banca examinadora, bem como ao cumprimento integral das exigências estabelecidas no Regimento Interno deste Programa de Pós-Graduação.

Curitiba, 06 de Junho de 2016.

*Aos voluntários que participaram deste
trabalho*

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Fernando Louzada, o maior mestre que já conheci na arte de ensinar e orientar, por me aceitar no laboratório sem me conhecer, por me guiar e acalmar em todas as situações, por me desafiar e acreditar nas minhas capacidades, por abrir a minha cabeça e expandir os meus horizontes, por partilhar comigo o seu vasto conhecimento e experiência e por ter influenciado profundamente quem eu sou hoje, como eu vejo o mundo e como eu me relaciono com as outras pessoas.

Ao Felipe Beijamini, por trilhar todos os caminhos na minha frente e assim fazer a minha caminhada tão mais fácil e tranquila. Obrigada pela parceria e companheirismo dentro e fora do laboratório, tanto ao partilhar da minha alegria nos bons momentos quanto ao me consolar nos momentos difíceis.

Ao Frederik Weber por doar a *toolbox* utilizada para a análise da microarquitetura da sesta, pela inestimável ajuda com a interpretação dos resultados comportamentais, pelo apoio a cada tentativa de publicação dos dados, mas acima de tudo, obrigada por me inspirar a querer ser uma pessoa melhor.

A todos os integrantes do LabCrono (atuais e egressos) que contribuíram para este trabalho durante o recrutamento de voluntários, coleta de dados e discussão dos resultados, em especial à Tâmile Anacleto, Roberta Almeida, Thaís Schaedler e Felipe Cini. Um agradecimento especial ao Felipe Cini por também me ajudar com os gráficos de força espectral.

Ao Dr. Christian Cajochen e todos os integrantes do Centro de Cronobiologia da UPK - Basileia (em especial a Daphne Schouten, Marcel Hofstater e Franziska Rudzik) por me acolherem tão bem e por tentarem me ajudar com a análise dos dados de EEG.

À minha família na Suíça, por todo o apoio durante a minha estadia no exterior.

A todos os professores que participaram da minha formação ao longo destes 10 anos de UFPR. Considero-me verdadeiramente privilegiada por ter tido esta oportunidade.

A todas as pessoas que fazem ou fizeram parte da minha vida nos últimos quatro anos e que acompanharam a minha trajetória. Obrigada por todo o apoio e carinho sem o qual eu certamente não teria chegado até aqui.

À CAPES pelo apoio financeiro, sem o qual eu não poderia ter embarcado nesta jornada.

Aos voluntários que tão gentilmente doaram o seu tempo (e paciência) para participar desta pesquisa.

“Everybody knows that sleep is important, yet the function of sleep seems like the mythological phoenix: ‘Che vi sai ciascun lo disse, dove sai nessun lo as’ (‘that there is one they all say, where it may be no one knows’).”

Cirelli & Tononi

“Omnes homines natura scire desiderant”

Aristóteles

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	14
1.1	NEUROBIOLOGIA DO SONO	15
1.1.1	Arquitetura do sono	15
1.1.2	O ciclo vigília-sono e regulação neural do sono	21
1.1.3	Funções do sono	25
1.1.4	A sesta.....	29
1.2	APRENDIZADO E MEMÓRIA.....	33
1.2.1	Formação e classificação da memória.....	33
1.2.2	Aprendizado e memória motora	37
1.3	PAPEL DO SONO NA CONSOLIDAÇÃO DA MEMÓRIA	45
1.3.1	Hipóteses.....	45
1.3.2	Evidências da consolidação ativa de sistemas	48
1.3.3	Técnicas de potencialização do efeito do sono sobre a memória	53
1.4	HIPÓTESE EXPERIMENTAL E JUSTIFICATIVA.....	62
2.	OBJETIVOS	68
2.1	OBJETIVO GERAL	68
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	68
3.	MATERIAL E MÉTODOS	69
3.1	PARTICIPANTES	69
3.2	DESENHO EXPERIMENTAL.....	70
3.3	QUESTIONÁRIOS	73
3.4	ACTIMETRIA.....	73
3.5	POLISSONOGRRAFIA E ANÁLISE DO EEG	74
3.6	FINGER-TAPPING TASK	76
3.7	ESTIMULAÇÃO TÁTIL.....	77
3.8	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	79
4.	RESULTADOS.....	80
4.1	APRENDIZADO E MEMÓRIA MOTORA	80
4.2	VARIÁVEIS DE CONTROLE	83
4.3	Macro e microarquitetura da sesta.....	87
5.	DISCUSSÃO	95
6.	CONCLUSÃO	107
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	108
8.	ANEXOS	118

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

EEG	– eletroencefalograma
EOG	– eletroculograma
EMG	– eletromiograma
ESS	– escala de sonolência de Epworth
FTT	– <i>finger tapping task</i> (tarefa de digitação)
GABA	– <i>ácido gama amino-butírico</i>
HO	– Horne-Ostberg
KSS	– escala de sonolência Karolinska
Lat	– latência de sono
LDT	– núcleo laterodorsal tegmental
MnPO	– núcleo pré-óptico mediano
NSQ	– núcleos supraquiasmáticos
NREM	– <i>non-rapid eye movements</i> (não-REM)
PPT	– núcleo pedúnculo-pontino tegmental
PSG	– polissonografia
REM	– <i>rapid eye movements</i> (movimentos oculares rápidos)
SARA	– sistema ativador reticular ascendente
SNC	– sistema nervoso central
SO	– <i>slow oscillations</i> (oscilações lentas)
SRTT	– <i>serial reaction time task</i>
SWS	– <i>slow wave sleep</i> (sono de ondas lentas)
tDCS	– estimulação transcraniana por corrente contínua
TMN	– núcleo túberomamilar
TMR	– targeted memory reactivation
TMS	– estimulação transcraniana magnética
TTS	– tempo total de sono
vIPAG	– substância cinzenta periaquedutal ventrolateral
VLPO	– núcleo pré-óptico ventrolateral
VTA	– área tegmental ventral
WASO	– <i>wake after sleep onset</i> (tempo de vigília após o início de sono)

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 –	TRAÇADO ELETROENCEFALOGRÁFICO DA VIGÍLIA E SONO.....	4
FIGURA 2 –	HIPNOGRAMA TÍPICO DE UM ADULTO JOVEM SAUDÁVEL.....	7
FIGURA 3 –	ONTOGENIA E FILOGENIA DO SONO.....	8
FIGURA 4 –	AREAS ENVOLVIDAS NA PROMOÇÃO DO SONO E VIGÍLIA.....	12
FIGURA 5 –	HIPÓTESE DA HOMEOSTASE SINÁPTICA.....	15
FIGURA 6 –	BENEFÍCIOS E EFEITOS COLATERAIS DA SESTA.....	18
FIGURA 7 –	DISSIPACÃO DA PRESSÃO DE SONO.....	19
FIGURA 8 –	TIPOS DE MEMÓRIA E ETAPAS DA SUA FORMAÇÃO.....	24
FIGURA 9 –	MODELO DE CONSOLIDAÇÃO DA MEMÓRIA MOTORA.....	32
FIGURA 10 –	TRIAGEM DOS PARTICIPANTES.....	57
FIGURA 11 –	DESENHO EXPERIMENTAL.....	59
FIGURA 12 –	O ESTIMULADOR.....	64
FIGURA 13 –	DESEMPENHO NA TAREFA FTT.....	69
FIGURA 14 –	DENSIDADE MÉDIA DA FORÇA ESPECTRAL DO SONO NREM DA SESTA, POR GRUPO E POR ELETRODO.....	75
FIGURA 15 –	DENSIDADE DE OSCILAÇÕES LENTAS E FUSOS DURANTE A SESTA POR GRUPO E POR ELETRODO.....	76
FIGURA 16 –	DENSIDADE DE OSCILAÇÕES LENTAS E FUSOS DURANTE A ESTIMULAÇÃO POR GRUPO E POR ELETRODO.....	79

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 –	TAXA DE DISPARO ESTADO ESPECÍFICA DE GRUPOS NEURONAIS CORTICAIS E DO TRONCO ENCEFÁLICO.....	11
TABELA 2 –	DESEMPENHO MOTOR.....	70
TABELA 3 –	CARACTERÍSTICAS DA AMOSTRA ESTUDADA.....	73
TABELA 4 –	PADRÃO DE SONO NOTURNO DA AMOSTRA ESTUDADA.....	73
TABELA 5 –	MACROARQUITETURA DA SESTA.....	74
TABELA 6 –	CORRELAÇÕES ENTRE AS VARIÁVEIS DE SONO E O DESEMPENHO	81

RESUMO

O papel do sono na consolidação da memória tem sido extensivamente documentado. O maior desafio atualmente é determinar como utilizar este conhecimento para desenvolver técnicas que permitam potencializar o efeito benéfico do sono sobre a consolidação da memória. Estudos sugerem que estímulos sensoriais (sons ou odores) apresentados durante o sono podem levar a um fortalecimento preferencial das memórias com as quais estes foram associados, uma técnica conhecida como reativação direcionada da memória. Se este efeito se estende a estímulos táteis é uma questão que permanece em aberto. Assim, o principal objetivo deste trabalho é testar o efeito da estimulação tátil durante um episódio de sono diurno sobre a consolidação de uma memória motora. Para isso, 88 jovens saudáveis foram convidados a participar deste estudo. Primeiro, todos realizaram a sessão de treino de uma tarefa de habilidade motora (*finger tapping task* - FTT) e em seguida metade dormiu uma sesta de 90 minutos (grupos Sesta) enquanto os restantes permaneceram acordados por igual período de tempo (grupos Vigília). A tarefa FTT avalia habilidades motoras finas: os indivíduos devem digitar uma sequência numérica (4-2-3-1-4) com a mão não dominante o mais rápido e preciso possível. Durante o intervalo de retenção, um terço dos voluntários recebeu estimulação tátil na mesma sequência praticada durante o treino (grupo Sequência Treinada, Sesta ou Vigília), um terço em uma sequência diferente da praticada durante o treino (grupo Sequência Não Treinada, Sesta ou Vigília) e os restantes não receberam nenhuma estimulação (grupo *Sham*, Sesta ou Vigília). Por último, todos realizaram a sessão de teste da tarefa de habilidade motora FTT. Não foram encontradas diferenças no desempenho (número médio de sequências corretamente digitadas) entre nenhum dos seis grupos ($p > 0,05$). No entanto, uma análise exploratória do eletroencefalograma dos grupos estimulados durante o sono (Grupos Sequência Treinada e Não Treinada, comparados com o grupo *Sham*) revelou alterações na densidade de oscilações lentas e fusos do sono induzidas pela estimulação. De acordo com a hipótese da consolidação ativa de sistemas, a estabilização de informações recém-adquiridas depende de uma interação finamente ajustada entre estes eventos oscilatórios. Estes resultados sugerem que a alteração da abundância e topografia cortical de oscilações lentas e fusos causada pela estimulação somestésica pode ter perturbado o processo de consolidação da memória e assim impedido a melhora de desempenho esperada. Concluímos que, em protocolos agudos, reativação direcionada da memória induzida por um estímulo tátil durante um episódio de sono diurno não resulta em uma melhora de desempenho na tarefa de habilidade motora FTT.

Palavras chave: sesta, consolidação da memória motora, *finger tapping task*, estimulação tátil;

ABSTRACT

Sleep's role in memory consolidation has been extensively documented. Nowadays, the major challenge is to determine how to use this information to develop techniques that potentiate sleep's beneficial role on memory consolidation. Studies suggest that sensory stimuli (sounds or odors) delivered during sleep might lead to a preferential strengthening of the associated memories, a technique known as targeted memory reactivation. Whether this effect extends to tactile stimuli or not remains an open question. Thus, the main goal of this study is to test the effect of a tactile stimulation during an episode of daytime sleep on motor memory consolidation. To this end, 88 healthy volunteers were invited to take part in this study. First, all participants performed the training session of the finger tapping task (FTT) and then half of them slept a 90 min daytime nap (Nap groups) while the other half remained awake for the same amount of time (Wake groups). The FTT probes fine motor skills: subjects are required to type a numerical sequence (4-2-3-1-4) with their non dominant hand, as fast and as accurately as possible. During the retention interval, a third received tactile stimulation in the same sequence as during training (Trained Sequence group, Nap or Wake), a third in a different sequence (Untrained Sequence group, Nap or Wake) and the remaining did not received any stimulation (Sham group, Nap or Wake). Finally, all participants performed the test session of the finger tapping task. No differences in performance (average number of correctly typed sequences) were found among the six groups ($p > 0.05$). However, an exploratory electroencephalogram analysis of the sleep cued groups (Trained and Untrained Sequence groups compared with the Sham group) revealed stimulation induced alterations in slow oscillations and spindle density. According to the active system consolidation hypothesis, the stabilization of recently acquired information depends on a finely tuned interaction between these oscillatory events. These results suggest that the tactile stimuli induced alterations in the abundance and cortical topography of slow oscillations and spindles may have disturbed memory consolidation processes and thereby hindered the expected performance improvements. We conclude that, in acute protocols, targeted memory reactivation driven by somatosensory cueing during a daytime nap does not result in performance improvement on the finger tapping task.

Keywords: *nap, motor memory consolidation, finger tapping task, tactile cueing;*

1. INTRODUÇÃO

O aprendizado e a memória dotam o nosso encéfalo de uma propriedade essencial à sobrevivência: detectar padrões de eventos recorrentes e usar esta informação para moldar comportamentos futuros. Graças a uma extraordinária capacidade de se transformar continuamente, o encéfalo se adapta constantemente às demandas ambientais introduzidas diariamente nas nossas vidas: novas responsabilidades, novos contatos sociais, novos lugares e decisões (WATSON; BUZSÁKI, 2015).

Grande parte do nosso comportamento é expressa por meio dos nossos movimentos e habilidades motoras, como operar um equipamento (dirigir, andar de bicicleta e etc.) ou um instrumento (escrever, digitar, tocar piano, pipetar e etc.). Mas o que todas essas atividades têm em comum? São aptidões que adquirimos e aperfeiçoamos ao longo de várias exposições, ou seja, por meio do treino. Mas será que a prática é suficiente para realizar uma habilidade motora com maestria? Segundo Walker e colaboradores (2002) está na hora de atualizar o famoso ditado popular “a prática leva à perfeição” para “a prática e o sono levam à perfeição”. Este período de consciência diminuída e processamento sensorial reduzido representa a janela temporal ideal para a estabilização e transformação de traços mnemônicos formados durante a vigília (BORN et al., 2006) (em mais detalhes na seção 1.3.2). Este fenômeno ocorre supostamente devido à reativação off-line das redes neuronais envolvidas na aquisição de novas informações (WILSON; MCNAUGHTON, 1994; BENDOR; WILSON, 2012; GULATI et al., 2014; RAMANATHAN et al., 2015).

Tem surgido na literatura um grande interesse em desenvolver técnicas que permitam amplificar ou acelerar os processos de consolidação e transformação da memória que ocorrem durante o sono (DIEKELMANN, 2014; FELD; DIEKELMANN, 2015), possivelmente devido à tendência globalizada de encurtar a duração de sono em virtude das crescentes exigências e possibilidades de lazer da sociedade da informação (HYSING et al., 2015). Uma dessas técnicas tem recebido destaque na literatura pela sua aparente simplicidade, eficácia e segurança: a reativação direcionada da memória (do inglês *targeted memory reactivation* – TMR) (revisado em OUDIETTE; PALLER, 2013; SCHOUTEN et al., 2016). A ideia principal consiste em utilizar pistas sensoriais durante o sono para sinalizar que informações devem ser preferencialmente consolidadas (RASCH et al., 2007). Até o momento ainda existem poucos relatos de tentativas de usar esta ferramenta para potencializar habilidades motoras (ANTONY et al., 2012; SCHÖNAUER et al., 2014; COUSINS et al., 2014, 2016; LAVENTURE et al., 2016) e nenhum utilizando estímulos táteis, que sabidamente desempenham um importante papel durante o aprendizado e ajuste do comportamento motor. Assim sendo, este trabalho surgiu com o intuito de manipular o processo natural de reativações neuronais utilizando um estímulo tátil, na tentativa de potencializar o efeito facilitador do sono sobre a consolidação de uma memória motora.

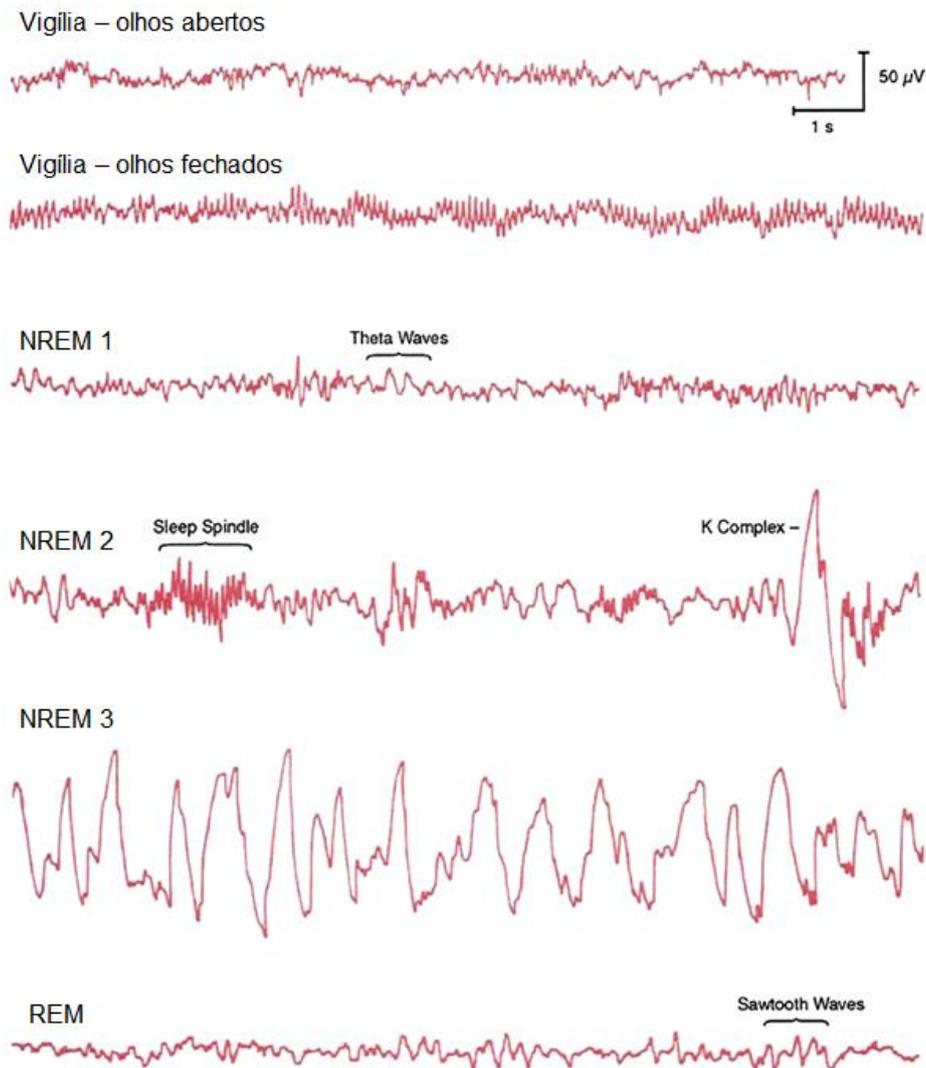
1.1 NEUROBIOLOGIA DO SONO

1.1.1 Arquitetura do sono

O sono é um estado comportamental que alterna com a vigília, relativo à qual é caracterizado por alterações características da fisiologia central e periférica, atenuação das respostas motoras, responsividade reduzida a estímulos sensoriais e diminuição da percepção consciente (revisado em SWICK, 2012).

O sono pode ser dividido em dois estágios principais que se alternam ciclicamente ao longo da noite: um estágio no qual estão presentes movimentos oculares rápidos (do inglês, *rapid eye movements* - REM) e outro no qual estes não são observados, denominado NREM (do inglês, *non-rapid eye movements*) (ASERINSKY; KLEITMAN, 1955). O estágio NREM por sua vez é subdividido em três estágios (NREM 1 a 3), nos quais o grau de sincronização neuronal detectado no eletroencefalograma (EEG) aumenta progressivamente, sendo o último estágio (NREM 3) também conhecido como sono profundo ou sono de ondas lentas (do inglês *slow wave sleep* - SWS) (IBER et al., 2007). Cada estágio de sono é definido por características eletrofisiológicas específicas, como descrito a seguir e ilustrado na figura 1.

FIGURA 1 – TRAÇADO ELETROENCEFALOGRÁFICO DA VIGÍLIA E SONO



FONTE: adaptado de SWICK (2012).

LEGENDA: O eletroencefalograma durante a vigília de olhos abertos e fechados (com aumento da incidência de ondas alfa em regiões occipitais) está exemplificado, assim como os estágios de sono NREM 1, NREM 2, NREM 3 e REM. Note a presença de ondas teta em NREM 1, de um fuso do sono (em inglês *sleep spindle*) e complexo K (em inglês, *K complex*) durante o estágio NREM 2, de oscilações lentas (ondas de baixa frequência e alta amplitude) em NREM 3 e de ondas em dente de serra (do inglês *sawtooth waves*) durante o sono REM.

A transição entre vigília e sono não é um evento discreto, mas sim contínuo. Durante a vigília em repouso é possível observar no EEG ondas de baixa amplitude e alta frequência, o eletroculograma (EOG) registra movimentos oculares rápidos e o eletromiograma (EMG) registra elevado tônus

muscular. À medida que a sonolência aumenta e os olhos se fecham surge no EEG um padrão de ondas de frequência em torno de 10 Hz conhecido como alfa, particularmente proeminente nas derivações occipitais (IBER et al., 2007).

O estágio NREM 1 é o primeiro e mais superficial estágio de sono, definido como a primeira época do EEG com menos de 50% de ondas alfa. É possível observar ondas de baixa amplitude e frequência mista (incluindo ondas teta com frequências entre 4 a 8 Hz e ondas agudas do vértex), movimentos oculares lentos e uma diminuição do tônus muscular, quando comparado à vigília. Em adultos saudáveis, este estágio ocupa em torno de 2 a 5 % do tempo total de sono (IBER et al., 2007).

Na sequência, o estágio NREM 2 é definido pela presença de fusos do sono (12 a 15 Hz) e/ou complexos K (ondas com duração mínima de 0,5 s) (IBER et al., 2007). O tônus muscular é menor do que no estágio NREM 1 e a quantidade de movimentos oculares lentos diminui até não ser observável. Os fusos do sono parecem ser importantes para a consolidação da memória (GAIS et al., 2002) e serão discutidos em maior detalhe na seção 1.3.2. Em adultos saudáveis, este estágio ocupa 45 a 55 % do tempo total de sono (IBER et al., 2007).

O último e mais profundo dos estágios NREM, o estágio 3 ou sono de ondas lentas, é definido pela presença de mais de 20 % de ondas delta (1 – 4 Hz) por época (30 s) (IBER et al., 2007). A atividade neuronal está altamente sincronizada, detectada no EEG como ondas de baixa frequência e alta amplitude (incluindo oscilações lentas – 0,5 a 1 Hz), principalmente nos eletrodos frontais. Não há movimentos oculares, o tônus muscular é baixo e as

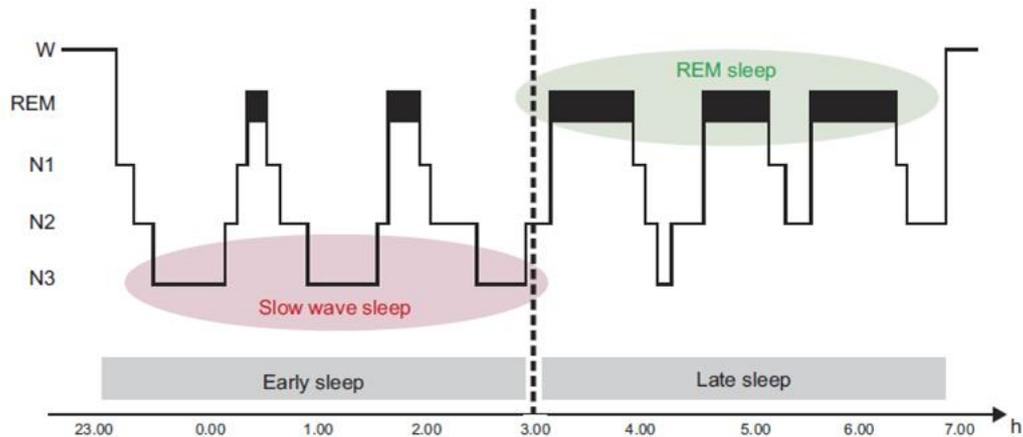
frequências cardíaca e respiratória estão diminuídas. Assim como os fusos do sono, as oscilações lentas (do inglês *slow oscillations* – SO) também foram implicadas no processo de consolidação da memória (MARSHALL et al., 2006) e por este motivo serão abordadas em maior detalhe na seção 1.3.2. Em adultos saudáveis, este estágio ocupa em torno de 15 a 25 % do tempo total de sono (IBER et al., 2007).

O estágio REM, também chamado de sono paradoxal, é caracterizado pela atonia muscular, pelos movimentos oculares rápidos, pela dessincronização cortical normalmente associada à vigília (e por isso ‘paradoxal’), pela presença de ondas de baixa voltagem e alta frequência e ainda pelas ondas tipo dente de serra. Em adultos saudáveis este estágio ocupa em torno de 20 % do tempo total de sono (IBER et al., 2007).

Um ciclo completo iniciando em sono NREM 1, progredindo até NREM 3 e em seguida REM dura aproximadamente 90 min. Em uma noite de sono, um indivíduo jovem saudável apresenta de 4 a 6 ciclos NREM - REM. No entanto, a proporção relativa de cada fase varia ao longo da noite: enquanto que na primeira metade da noite predomina o sono NREM 3 (ou SWS), na segunda metade predomina sono REM (DEMENT; KLEITMAN, 1957).

A arquitetura do sono (distribuição e proporção de cada uma das fases de sono) pode ser representada graficamente em um hipnograma. Um exemplo de hipnograma de um adulto jovem saudável pode ser visualizado na Figura 2.

FIGURA 2 – HIPNOGRAMA TÍPICO DE UM ADULTO JOVEM SAUDÁVEL



FONTE: adaptado de RASCH; BORN (2013).

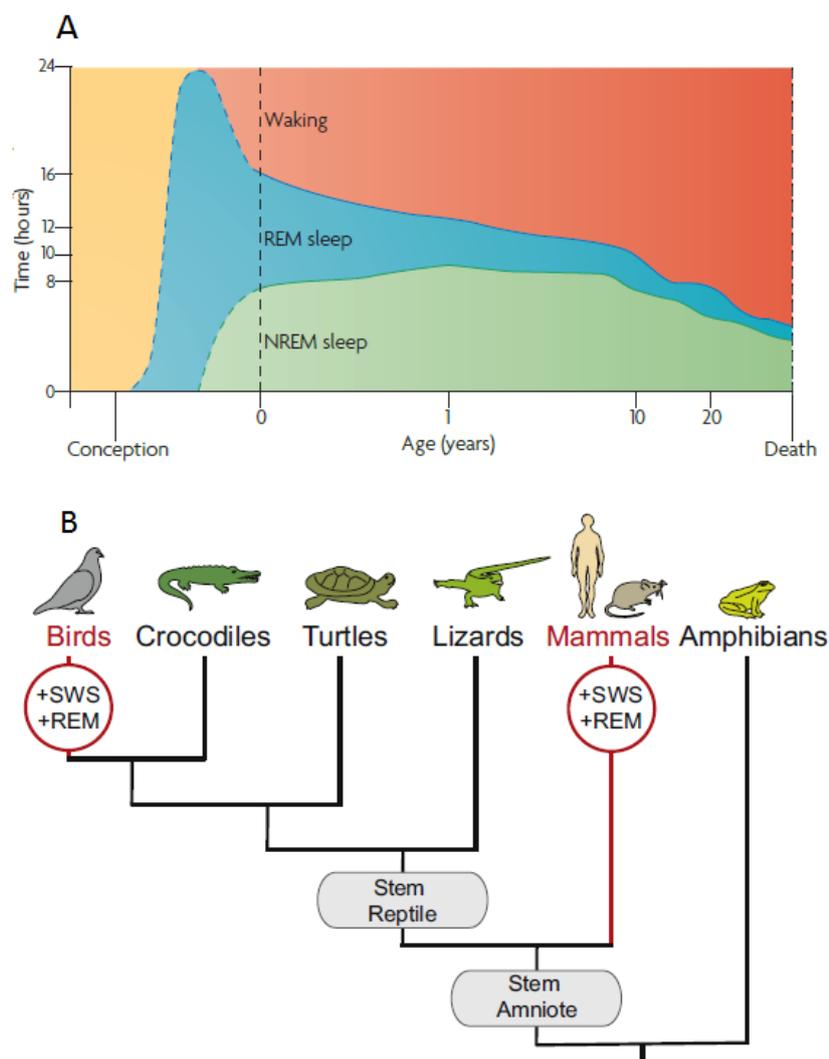
LEGENDA: No eixo x estão plotadas as horas, em uma noite de 8 h de sono (das 23:00 às 7:00). No eixo y estão os estágios de sono (REM, N1, N2 e N3) e vigília (W). Na primeira metade da noite ('*early sleep*') está destacada em rosa a maior concentração de sono de ondas lentas (N3) e na segunda metade da noite ('*late sleep*') está destacada em verde a maior proporção de sono REM.

A arquitetura de sono varia ontogeneticamente: a quantidade de tempo passado em sono REM é máxima no último trimestre de gestação e vai diminuindo desde o nascimento até à idade adulta. A quantidade de sono NREM também vai diminuindo ao longo do desenvolvimento à medida que a vigília começa a ocupar parcelas cada vez maiores do dia (revisado em HOBSON, 2009).

Filogeneticamente, o sono não é um comportamento exclusivo de humanos e nem mesmo de mamíferos, estando presente em provavelmente todos os vertebrados. Estados semelhantes ao sono também já descritos em invertebrados como a mosca da fruta *Drosophila*, abelhas e o nematódeo *C. elegans* (revisado em VORSTER; BORN, 2015).

A Figura 3 ilustra a ontogenia e filogenia do sono.

FIGURA 3 – ONTOGENIA E FILOGENIA DO SONO



FONTE: A) adaptado de HOBSON (2009) e B) adaptado de VORSTER; BORN (2015).

LEGENDA: A) Proporção relativa de tempo passado em vigília, sono NREM e sono REM ao longo da vida; B) Surgimento paralelo do sono de ondas lentas e sono REM em aves e mamíferos.

1.1.2 O ciclo vigília-sono e regulação neural do sono

O ciclo vigília-sono é um ritmo biológico circadiano, ou seja, um evento biológico que se repete regularmente, com período aproximado de 24 h (revisado em FOSTER; WULFF, 2005).

Em mamíferos, os núcleos supraquiasmáticos (NSQ) funcionam como um oscilador responsável por sincronizar os ritmos biológicos, de natureza

endógena, a um estímulo ambiental externo, no caso a luz (ou melhor, à alternância entre o claro e o escuro). Inicialmente a luz é detectada na retina, em células ganglionares contendo o fotopigmento melanopsina e segue via projeções glutamatérgicas até os NSQ pelo trato retinohipotalâmico (revisado em MENDOZA; CHALLET, 2009). O potencial de repouso dos neurônios dos NSQ varia ciclicamente, gerando um ritmo circadiano por meio de alças de retroalimentação negativa de síntese proteica com duração aproximada de 24 h. Dos NSQ são emitidas projeções para diversas regiões do hipotálamo e tálamo, que desta forma controlam uma série complexa de interações hormonais e comportamentais, incluindo o ciclo vigília - sono (revisado em SWICK, 2005, 2012).

Um dos modelos propostos para explicar a regulação do ciclo vigília-sono é o modelo dos dois processos: o processo homeostático (S) relacionado com a pressão de sono e o processo circadiano (C), que controla os limiares que determinam a inversão do processo S (BORBÉLY, 1982). Este modelo propõe que os NSQ seriam responsáveis por controlar um fator 'S' que aumenta progressivamente durante a vigília até alcançar um dado limiar, no qual o sono teria início. Este mesmo fator seria dissipado durante o sono até atingir o seu limiar inferior, momento atrelado ao fim da fase de sono (BORBÉLY, 1982). Já foi proposto que a adenosina poderia ser a substância responsável pelo acúmulo da pressão homeostática de sono (o fator 'S'), uma vez que esta é capaz de promover o sono pela inibição direta de grupos de neurônios promotores da vigília e pela desinibição dos neurônios promotores do sono no núcleo pré-óptico ventrolateral (VLPO) (revisado em SWICK, 2005, 2012). Ainda de acordo com este modelo, existem dois momentos de

propensão circadiana aumentada ao sono: um principal ocorrendo à noite e outro secundário após o almoço, no começo da tarde (BORBÉLY, 1982). Apesar de útil, o modelo de dois processos ainda não incorporou a contribuição dos sistemas moduladores envolvidos na regulação do ciclo vigília-sono, que serão discutidos a seguir.

O sistema ativador reticular ascendente (SARA) desempenha um importante papel na manutenção da vigília. O SARA recebe aferentes viscerais, somáticos e dos sistemas sensoriais especiais, que trafegam em duas vias principais: uma dorsal, que segue até os núcleos talâmicos, com projeções colinérgicas do prosencéfalo basal e dos núcleos pedúnculo-pontino tegmental (PPT) e laterodorsal tegmental (LDT); e outra ventral, que segue até o hipotálamo, com projeções noradrenérgicas do *locus coeruleus*, serotoninérgicas do núcleo da rafe, dopaminérgicas da substância cinzenta periaquedutal ventrolateral (VIPAG) e da área tegmental ventral (VTA), e histaminérgicas do núcleo túberomamilar (TMN) (revisado em SWICK, 2005, 2012). Já foram também descritas as projeções orexinérgicas do hipotálamo lateral, que também desempenham um papel importante na manutenção da vigília (LECEA, DE et al., 1998; LECEA, DE, 2012).

De forma resumida é possível dizer que os neurônios colinérgicos aqui descritos disparam rapidamente durante a vigília e vão diminuindo progressivamente a sua taxa de disparo durante o sono NREM, até cessar por completo na fase NREM 3. Durante o sono REM, contudo, estes neurônios voltam a apresentar uma elevada taxa de disparo. Já os neurônios noradrenérgicos, serotoninérgicos, dopaminérgicos, histaminérgicos e orexinérgicos apresentam um padrão de disparo máximo durante a vigília, que

vai diminuindo progressivamente durante o sono NREM. Em contrapartida, os neurônios promotores do sono dos núcleos VLPO e MnPO (pré-óptico mediano) emitem projeções inibitórias (via GABA e galanina) para todos os centros promotores da vigília. Devido ao seu padrão de disparo, foi proposto que o núcleo MnPO estaria envolvido com o início do sono e o núcleo VLPO com a manutenção do mesmo. Em geral, estes neurônios exibem uma taxa máxima de disparo durante o sono NREM, que diminui durante o sono REM e cessa durante a vigília (revisado em SWICK, 2005, 2012).

A regulação do sono REM acontece por mecanismos distintos da regulação do sono NREM e já foi proposto que a dopamina deve participar desse processo (cujos detalhes estão fora do escopo deste trabalho) (LIMA, 2013).

O padrão de disparo de cada um destes grupos neuronais está resumido na tabela 1 e uma representação da interação entre os grupos neuronais envolvidos na promoção da vigília e sono está disponível na figura 4.

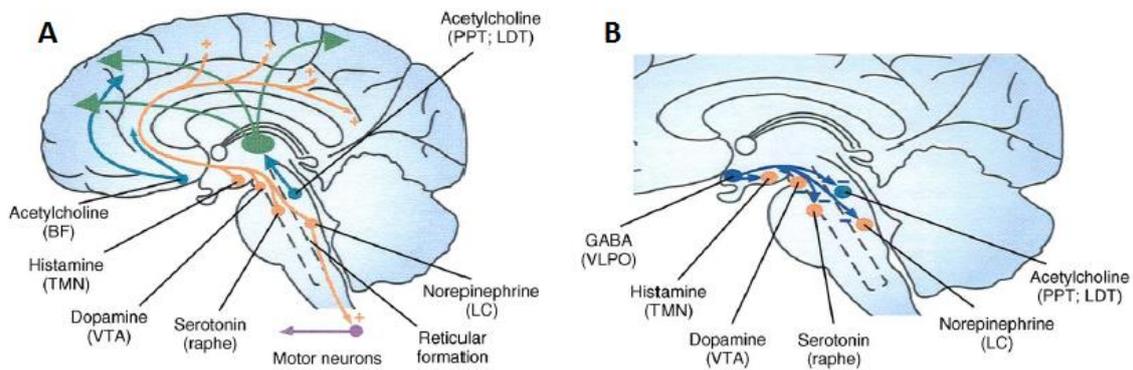
TABELA 1 – TAXA DE DISPARO ESTADO ESPECÍFICA DE GRUPOS NEURONAIS CORTICAIS E DO TRONCO ENCEFÁLICO

Local	Neurotransmissor	Vigília	NREM	REM
Prosencéfalo basal	Acetilcolina	++++	+	++++
LDT/PPT	Acetilcolina	++++	+++ → 0	++++
<i>Locus coeruleus</i>	Noradrenalina	++++	++	+
N. da Rafe	Serotonina	++++	++	+
vPAG/VTA	Dopamina	++++	++	+
TMN	Histamina	++++	++	+
Hipotálamo lateral	Orexina	++++	+	+
MnPO e VLPO	GABA/Galanina	0	++++	+++

FONTE: Adaptada de SWICK (2012).

LEGENDA: consultar texto e/ou lista de abreviaturas. Quanto maior o número de sinais '+', maior a taxa de disparo.

FIGURA 4 – ÁREAS ENVOLVIDAS NA PROMOÇÃO DA VIGÍLIA E SONO



FONTE: adaptado de SWICK (2012).

LEGENDA: A) Grupos neuronais envolvidos na promoção da vigília; B) Neurônios GABAérgicos do núcleo VLPO inibindo os grupos neuronais envolvidos na promoção da vigília e assim proporcionando o início do sono.

1.1.3 Funções do sono

A questão “por que dormimos e sonhamos?” foi recentemente listada como um dos oito problemas da neurociência ainda não solucionados, mas que deverão ser resolvidos nos próximos 50 anos (ADOLPHS, 2015).

Dormir representa um risco considerável à sobrevivência do indivíduo devido ao aumento da susceptibilidade à predação e ainda assim é um comportamento altamente conservado evolutivamente (pelo menos nos vertebrados), o que é geralmente apontado como um argumento a favor da importância do sono (revisado em CIRELLI; TONONI, 2008).

Mas será que o sono é realmente essencial? O sono poderia ser simplesmente um comportamento útil, mas não exatamente necessário: algo que os animais fazem quando não têm necessidades mais urgentes como alimentação e reprodução (RIAL et al., 2007), o que explicaria porque a duração de sono varia tanto entre diferentes espécies (CAMPBELL; TOBLER,

1984). Desta forma, o sono não teria uma função principal, razão pela qual ninguém a identificou ainda.

Cirelli e Tononi (2008) sugerem que, caso esta 'hipótese nula' se verifique, seria de esperar encontrar: 1) animais que não dormem; 2) animais que não apresentam rebote de sono quando ficam acordados por longos períodos de tempo; 3) nenhuma consequência grave decorrente da privação de sono.

Ao revisar todos os casos em que foi alegado que determinada espécie não dormiria ou não apresentaria mecanismos compensatórios à privação de sono, os autores concluíram que o sono está sim presente e é rigorosamente regulado em todas as espécies estudadas até ao momento (CIRELLI; TONONI, 2008). Em relação à última previsão da hipótese nula, existe uma enorme quantidade de estudos descrevendo os efeitos da privação de sono, que incluem consequências sérias para o organismo e principalmente para o cérebro (revisado em KILLGORE, 2010).

Assim sendo, que função cumpriria afinal o sono? Segundo Cirelli e Tononi (2008): a) este comportamento teria sido selecionado para servir uma função universal (a mesma função em todas as espécies em que está presente); b) apesar do sono claramente afetar vários aspectos da fisiologia e comportamento (desde imunidade até regulação hormonal, metabolismo e termorregulação), deve existir uma função principal que requer o sono e várias outras que se aproveitam ou beneficiam dele; c) dada a variedade de formas nas quais o sono pode se apresentar, essa função deve transcender fenótipos e mecanismos específicos (pois é mais parcimonioso assumir que existem

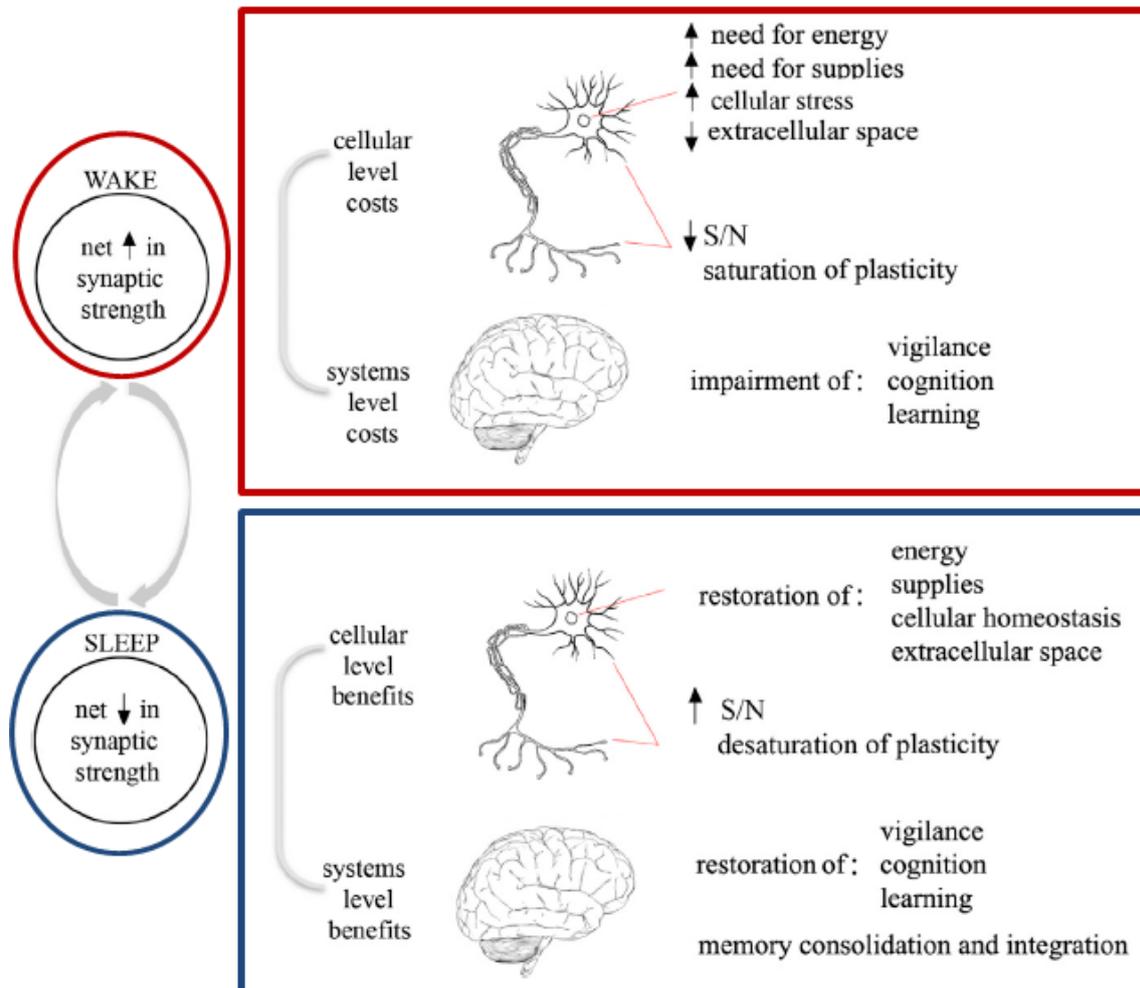
múltiplas maneiras de atingir um mesmo objetivo do que supor que diferentes fenótipos de sono implicam diferentes funções); d) essa função deve ser principalmente para o encéfalo, uma vez que a consequência mais imediata e inevitável da privação de sono é o déficit cognitivo; e) se o sono tem uma função principal a serviço do encéfalo, é possível que ela seja identificável a nível celular. Essa função não pode ser providenciada durante a vigília em repouso e se beneficia especificamente do isolamento ambiental (CIRELLI; TONONI, 2008), senão de outro modo, por que o sono seria um comportamento tão ubíquo?

Existem algumas propostas para explicar que função afinal poderia cumprir todas as cinco 'exigências' descritas no parágrafo anterior. De acordo com Tononi e Cirelli, o sono é "o preço a pagar pela plasticidade": durante a vigília ocorre um aumento da força sináptica em consequência da interação com o ambiente e do aprendizado e o sono seria a oportunidade ideal para renormalizar as sinapses a um nível basal sustentável e assim garantir a homeostase celular (TONONI; CIRELLI, 2006, 2014). Mais especificamente, esse aumento da força sináptica levaria a um aumento do consumo energético devido à necessidade de sintetizar e transportar constituintes celulares até às sinapses, como: mitocôndrias, vesículas sinápticas, proteínas e lipídios, o que seria uma fonte de estresse celular e levaria, em última instância, a uma saturação da capacidade de registrar novas informações. O sono atuaria melhorando a relação de sinal para ruído (do inglês '*signal-to-noise ratio*'), pois ao diminuir a força sináptica geral para proporcionar a homeostase celular, as sinapses mais fracas e menos utilizadas acabariam sendo eliminadas e os recursos energéticos seriam realocados para as sinapses cujos padrões de

disparo são preditivos de ativação pós-sináptica (TONONI; CIRELLI, 2006, 2014).

Na figura 5 é apresentado um esquema ilustrativo da hipótese da homeostase sináptica.

FIGURA 5 – HIPÓTESE DA HOMEOSTASE SINÁPTICA



FONTE: Adaptado de TONONI; CIRELLI (2014).

LEGENDA: Em vermelho estão ressaltados os processos que ocorrem a nível celular e sistêmico à medida que aumenta o tempo de vigília (como aumento do estresse celular e prejuízo cognitivo) e em azul os processos que ocorrem durante o sono (como restauração da homeostase celular e cognição).

Alternativamente, a única forma de explicar a perda da consciência associada ao sono é assumir que este está a serviço da consolidação da

memória. Isto porque as mesmas redes neuronais são recrutadas durante a aquisição de uma informação e durante a sua consolidação. Caso estes processos ocorressem em simultâneo, um poderia causar interferência no outro. Este problema foi 'resolvido' ao longo da evolução ao realocar cada um destes processos para janelas temporais distintas (revisado em BORN et al., 2006; BORN; WILHELM, 2012). As hipóteses explicativas dos mecanismos pelos quais o sono facilitaria a consolidação da memória e as evidências atualmente disponíveis da hipótese da consolidação ativa de sistemas (atualmente a mais aceita na literatura) serão apresentadas na seção 1.3.1 e 1.3.2 respectivamente.

1.1.4 A sesta

A sesta é um episódio de sono diurno curto, podendo durar de alguns minutos a algumas horas (revisado em LOVATO; LACK, 2010). O ato de dormir a sesta é realizado principalmente por um dos três seguintes motivos: 1) como uma solução prática para reduzir a sonolência (sesta compensatória); 2) em antecipação à perda de sono futura (sesta profilática); 3) simplesmente por prazer (sesta apetitiva ou recreacional) (revisado em FICCA et al., 2010).

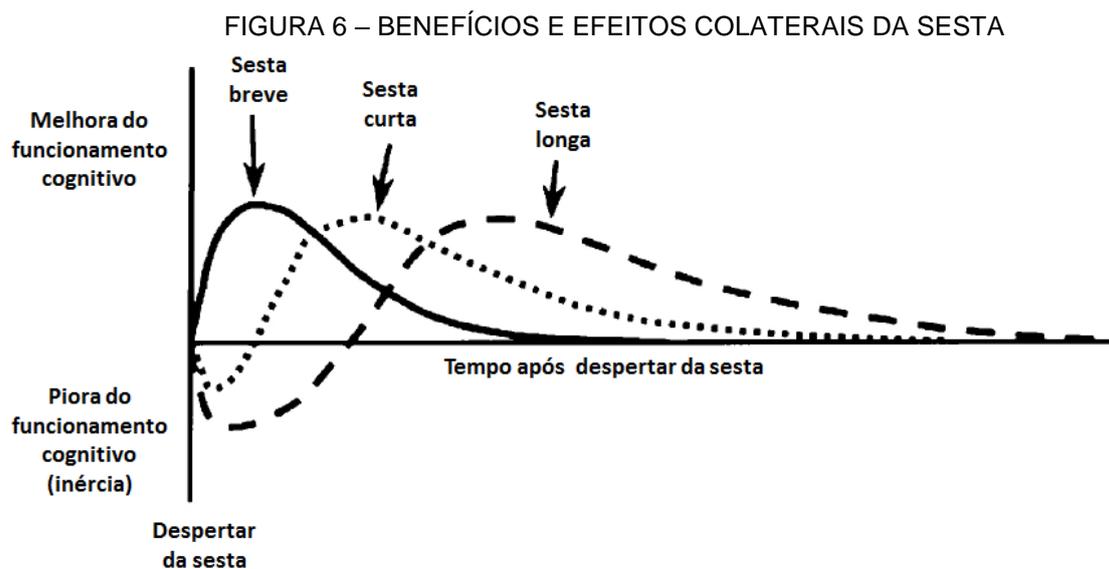
Cochilar é considerado um fenômeno global altamente prevalente que ocorre na infância e persiste na maioridade: em 2001, 74% dos adultos de meia idade dos Estados Unidos da América afirmaram cochilar pelo menos uma vez por semana (PILCHER et al., 2001). A alta prevalência deste comportamento pode ser explicada pelos benefícios empiricamente percebidos pelos indivíduos que o adotam, benefícios esses que na sua maioria possuem respaldo na

literatura. Já foi demonstrado que a sesta pode reduzir a sonolência subjetiva e objetiva, aumentar a vigília e o alerta, melhorar o funcionamento cognitivo, o desempenho psicomotor, a memória e o humor (revisado em FICCA et al., 2010). Um estudo mostrou que a sesta também propicia uma melhora do aprendizado motor, porém apenas em indivíduos que cochilam regularmente, se mostrando prejudicial para aqueles que não têm o hábito de cochilar (MILNER et al., 2006).

Assim, alguns fatores devem ser levados em consideração quando se pretende maximizar a obtenção dos potenciais benefícios provenientes da sesta, a saber: 1) a duração e 2) horário da sesta, 3) histórico de sono prévio e 4) características individuais como a idade e hábito de cochilar. Cada um destes fatores será abordado em maior detalhe a seguir.

A duração da sesta é talvez o fator que mais precisamente prevê se o seu efeito será ou não percebido como benéfico pelo indivíduo. Sestas breves (~10 min) podem melhorar o alerta, diminuir a fadiga e melhorar o desempenho em várias tarefas cognitivas. Geralmente estes efeitos são percebidos quase imediatamente após o despertar e podem durar até 3 h. Já sestras curtas (~30 min) e longas (~2 h) podem levar o indivíduo a sofrer os efeitos indesejados da inércia de sono antes que os seus benefícios se façam sentir, embora neste caso eles possam perdurar por até 24 h (LOVATO; LACK, 2010). A inércia de sono pode ser definida como desorientação e/ou desempenho inferior logo após o despertar em decorrência da transição sono/vigília, caracterizada por padrões eletroencefalográficos que se assemelham mais ao estágio NREM 1 do que à vigília (NAITOH ANGUS 1989). Apesar da quantidade de sono de ondas lentas estar positivamente correlacionada ao valor restaurador de uma

sesta, também está diretamente associada à intensidade e duração da inércia de sono (AKERSTEDT; FOLKARD, 1997). Por este motivo, idealmente a sesta deveria durar entre 10 e 45 min (para evitar que o indivíduo entre em sono NREM 3) ou então 90 min (para que o indivíduo possa se beneficiar da dissipação da pressão de sono proporcionada pelo sono NREM 3 e ao mesmo tempo completar um ciclo de sono e assim diminuir a probabilidade de sentir a inércia pós-despertar) (DHAND; SOHAL, 2006). A relação entre a duração da sesta, a extensão temporal dos seus benefícios e a intensidade da inércia de sono está representada graficamente na figura 6.

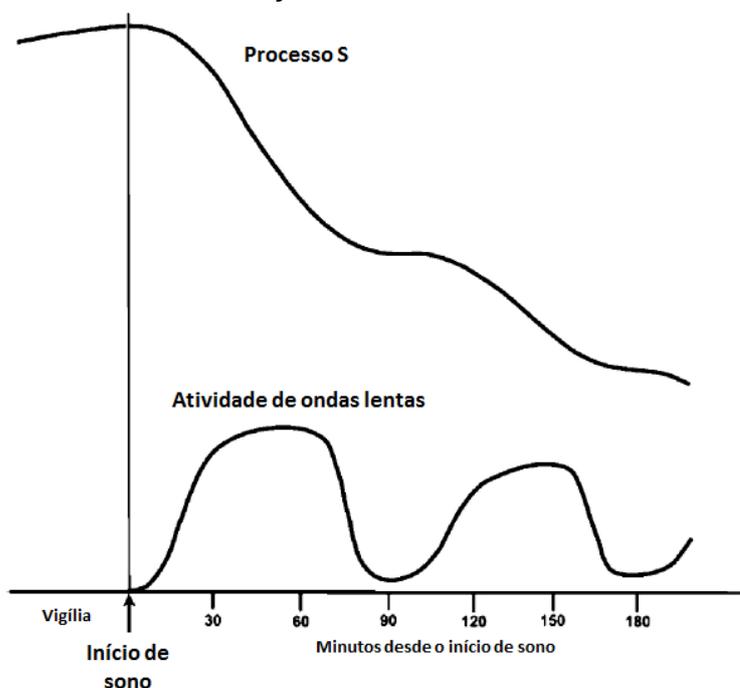


FONTE: Adaptado de LOVATO; LACK (2010).

Em relação ao horário, estudos sugerem que a sesta resultará em maior valor restaurador se agendada para o pico diurno de sonolência circadiana, que ocorre entre as 13 e as 16 h (HAYASHI; WATANABE; et al., 1999; HAYASHI; ITO; et al., 1999).

Quanto ao histórico de sono prévio, foi demonstrado que sestas após longos períodos de vigília são menos eficazes e os seus benefícios são menos duradouros do que sestas após períodos curtos de vigília, de tal forma que, quanto mais tempo um indivíduo permanece acordado, mais longa a sesta necessita ser para melhorar o nível de alerta (DINGES et al., 1987). Estes resultados estão de acordo com as previsões do modelo dos processos C e S de regulação do sono (BORBÉLY, 2009). Quanto maior a pressão homeostática de sono (que pode se acumular tanto por longos períodos de vigília quanto por restrição de sono noturno), maior será a probabilidade de um indivíduo entrar em SWS mesmo durante uma sesta curta, em uma tentativa de dissipar essa pressão de sono, ou Processo S (ver figura 7). Conseqüentemente, maior será também a probabilidade de sofrer os efeitos da inércia de sono ao despertar.

FIGURA 7 – DISSIPACÃO DA PRESSÃO DE SONO



FONTE: Adaptado de LOVATO; LACK (2010).

Por último, em relação ao hábito de cochilar, um estudo mostrou que a arquitetura da sesta varia de acordo com o número de sesta que um indivíduo dorme por semana (MCDEVITT et al., 2012). Pessoas sem o hábito de cochilar apresentaram maior quantidade de SWS, enquanto que aquelas que dormiam três a quatro sesta por semana tinham um sono mais superficial, com maior quantidade de NREM 1 e de sonolência diurna subjetiva (MCDEVITT et al., 2012). Os autores concluíram que a menor sonolência diurna e a propensão a sentir inércia de sono ao despertar como consequência de dormir SWS poderia explicar por que estas pessoas preferem não cochilar (MCDEVITT et al., 2012).

Em resumo, a sesta é um comportamento altamente prevalente que pode melhorar o desempenho cognitivo. Os seus benefícios serão máximos para sesta curtas (~30 min), agendadas para o momento de máxima sonolência diurna (13-16 h), após um episódio prévio de vigília não muito longo (revisado em LOVATO; LACK, 2010) e para aqueles indivíduos que têm o hábito de cochilar (MILNER et al., 2006).

1.2 APRENDIZADO E MEMÓRIA

1.2.1 Formação e classificação da memória

A formação da memória acontece em três etapas: a aquisição (aprender), a consolidação (armazenar) e a evocação (lembrar) (revisado em SQUIRE et al., 2015).

A aquisição é o processo de se apropriar de informações novas para armazenamento na forma de uma representação neural. A consolidação é o

processo gradual de estabilização e fortalecimento de uma informação aprendida, promovendo a sua retenção. Na ausência de consolidação, um traço mnemônico pode decair ou ser sobreposto por novas informações. Em outras palavras, essas memórias podem ser esquecidas. A consolidação possivelmente depende de múltiplos processos que transformam uma dada representação e facilitam a sua translocação e integração em redes semânticas pré-existentes (MCGAUGH, 2000; WALKER; STICKGOLD, 2004). Um aprofundamento das principais hipóteses atualmente disponíveis para explicar como se dá a consolidação da memória está disponível na seção 1.3.1.

A evocação é o mecanismo de recuperar informações previamente adquiridas e armazenadas. Após a evocação, para que uma dada memória persista, ela deverá passar pelo processo de reconsolidação (AGREN, 2014).

Vale ressaltar que a distinção entre estes processos não é claramente definida e que é possível que os mecanismos celulares e moleculares que lhes dão suporte se sobreponham, pelo menos parcialmente. Por exemplo, como se poderia verificar experimentalmente a consolidação de uma memória sem provocar a sua evocação? E assim sendo, como podemos ter certeza de que uma determinada intervenção está atuando especificamente no processo de consolidação da memória e não na sua evocação? Questões como esta permanecem em aberto na literatura e denotam as ainda grandes lacunas de conhecimento nesta área da neurociência.

Quanto à classificação da memória, esta pode ser categorizada de acordo com o seu tempo de retenção (sensorial, operacional, de curta ou longa

duração) ou com a sua natureza (declarativa ou não declarativa) (revisado em SQUIRE, 2004; SQUIRE et al., 2015; SQUIRE; DEDE, 2015).

O termo 'memória declarativa' se refere ao conhecimento de episódios (memória episódica) e fatos (memória semântica) que são explicitamente adquiridos e evocados. A memória episódica está relacionada a eventos e aos contextos espaciotemporais a eles associados, como por exemplo, se lembrar do que aconteceu no dia 11 de Setembro de 2001 e onde cada um de nós estava quando soube do ocorrido. Já memória semântica inclui fatos acerca do mundo que são armazenados independentemente do contexto em que foram aprendidos como por exemplo, saber que o local onde aconteceu esse evento, Nova York, é uma cidade dos EUA (revisado em SQUIRE, 2004; SQUIRE et al., 2015; SQUIRE; DEDE, 2015).

A memória não declarativa compreende vários subtipos, dentre eles: o condicionamento, memória não associativa, *priming* e a memória procedural (WALKER; STICKGOLD, 2004).

A memória procedural, foco deste trabalho, refere-se ao conhecimento de hábitos e habilidades perceptuais e motoras como, por exemplo, tocar um instrumento musical, dirigir ou andar de bicicleta. Este tipo de memória é adquirido implicitamente, é integrado aos procedimentos e se avalia por meio do desempenho (revisado em SQUIRE, 2004; SQUIRE et al., 2015; SQUIRE; DEDE, 2015).

Uma diferença significativa entre os dois tipos principais de memória está na forma pela qual elas são adquiridas. Enquanto a memória declarativa está associada ao aprendizado rápido adquirido em até mesmo uma única

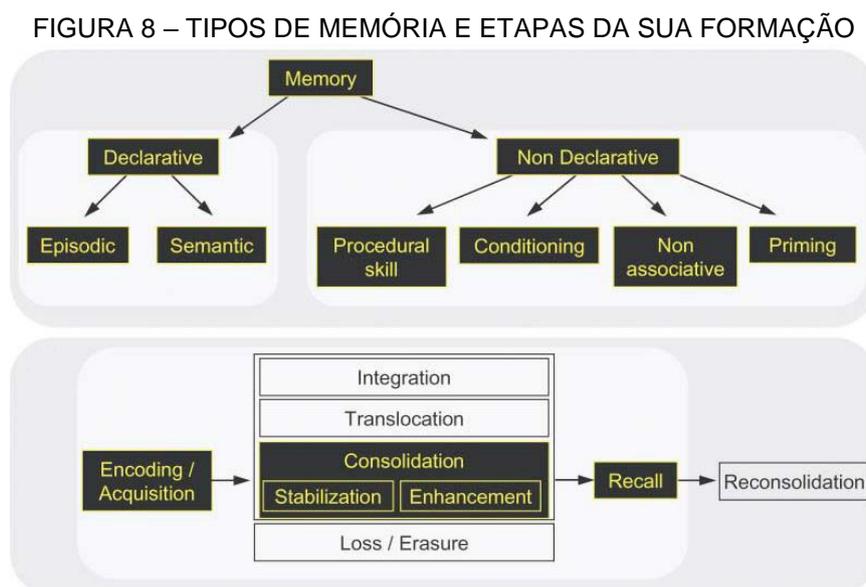
exposição, o aprendizado de memórias não declarativas é mais lento e geralmente requer múltiplas tentativas ou exposições como, por exemplo, aprender a tocar um instrumento musical. Por outro lado, memórias declarativas estão mais susceptíveis ao esquecimento rápido, enquanto que memórias não declarativas, uma vez consolidadas, tendem a perdurar por longos períodos de tempo (bem ilustrado pela famosa frase: 'é como andar de bicicleta, nunca se esquece') (revisado em SQUIRE, 2004; SQUIRE et al., 2015; SQUIRE; DEDE, 2015).

A descoberta das bases neurais das memórias declarativa e não declarativa deve-se em grande parte aos estudos com o paciente H.M.. Após a remoção cirúrgica bilateral de grande parte do seu lobo temporal medial, H.M. apresentou um quadro acentuado de amnésia anterógrada. Assim surgiram as primeiras evidências em humanos de que a aquisição da memória declarativa é suportada por regiões do lobo temporal medial como o hipocampo e as regiões adjacentes a este: o córtex entorrinal, perirrinal e o giro parahipocampal (MILNER, 2005). Cada uma destas estruturas estaria envolvida com a formação de diferentes aspectos da memória declarativa. A memória de objetos pode ser atribuída ao córtex perirrinal, de cenas ao córtex parahipocampal e a associação entre os objetos e as cenas ao hipocampo (SQUIRE, 2004; DAVACHI, 2006; STARESINA et al., 2011).

A memória procedural tem sido classicamente descrita como independente do hipocampo, estando a sua aquisição principalmente relacionada a áreas como o córtex motor, o estriado e o cerebelo (SQUIRE; ZOLA, 1996). No entanto, estudos mais recentes têm proposto que estes dois sistemas de memória talvez não sejam completamente independentes. Na

verdade, ambos interagem durante as fases iniciais do aprendizado de comportamentos motores sequenciais (ALBOUY; STERPENICH; et al., 2013; ALBOUY et al., 2015), sendo a atividade hipocampal ainda responsável por desencadear o subsequente aprimoramento do desempenho que acontece durante o sono (ALBOUY; STERPENICH; et al., 2013; ALBOUY; KING; et al., 2013; ALBOUY et al., 2015). As características e processos envolvidos na aquisição e consolidação da memória motora serão discutidos em maior detalhe na seção 1.2.2.

Um esquema relacionando os tipos de memória e as etapas da formação da memória pode ser encontrado na figura 8.



FONTE: Adaptado de WALKER; STICKGOLD (2004).

LEGENDA: No painel superior estão apresentados os tipos de memória e no painel inferior estão ilustradas as etapas da formação da memória.

1.2.2 Aprendizado e memória motora

Habilidade motora é a capacidade de executar uma determinada ação de forma consistente, com um amplo espectro de parâmetros definindo a

sua execução (DUDMAN; KRAKAUER, 2016). O aprendizado de uma habilidade motora pode ser definido como a aquisição e otimização de uma nova série de movimentos inter-relacionados (PENHUNE; STEELE, 2012).

As habilidades motoras são geralmente separadas em duas categorias principais: o aprendizado de sequências motoras (que se refere à aquisição de movimentos executados em uma determinada organização temporal) e a adaptação motora (que se refere à capacidade de compensar alterações ambientais) e (DOYON et al., 2003).

Mais recentemente outras categorias têm sido descritas, tais como o reforço operante e a plasticidade dependente do uso, fazendo assim do termo aprendizado motor um 'guarda-chuva conceitual', que engloba múltiplos processos componentes, cada um com um substrato neural específico (KRAKAUER; MAZZONI, 2011). Na revisão de Krakauer e Mazzoni, os autores alertam para os equívocos e simplificações exageradas às quais os resultados do famoso experimento com o paciente H.M. foram submetidos. O *mirror tracing*, teste utilizado para avaliar a memória motora no paciente H.M. avalia apenas a capacidade de adaptação motora e não outras formas de aprendizado motor. Além disso, o fato de que H.M. não conseguia se lembrar de ter realizado a tarefa anteriormente não significa que ele não fizesse uso de processos explícitos toda a vez que a realizava, ou seja, memória explícita e processos explícitos de controle são entidades distintas (KRAKAUER; MAZZONI, 2011).

Além disso, a divisão clássica entre memórias declarativas dependentes do hipocampo e memórias procedurais independentes do hipocampo tem sido

desafiada por um corpo crescente de estudos (revisados em ALBOUY et al., 2013), como será exposto a seguir. Para tanto, inicialmente serão descritos os modelos atualmente disponíveis para explicar como se dá o aprendizado de sequências motoras (DOYON et al., 2003, 2009; DOYON; BENALI, 2005; PENHUNE; STEELE, 2012) e em seguida como as novas evidências que têm surgido na literatura contribuíram para refinar o entendimento da contribuição do hipocampo e do sono para a consolidação do aprendizado motor (ALBOUY; STERPENICH; et al., 2013; ALBOUY; KING; et al., 2013; ALBOUY et al., 2015).

De acordo com o modelo de Doyon e colaboradores (2009), o aprendizado de uma sequência motora se daria ao longo de três fases distintas: 1) uma fase inicial na qual ocorre aprendizado rápido; 2) uma fase na qual o aprendizado ocorre de forma lenta e se dá a consolidação e automatização do movimento; 3) uma fase da retenção, após um dado intervalo de tempo.

Durante a fase inicial, o desempenho é atribuído a mecanismos córtico-estriatais e córtico-cerebelares, com possíveis contribuições do controle executivo explícito frontal e hipocampal. A interação funcional dinâmica entre estes sistemas seria essencial para o estabelecimento das rotinas motoras necessárias ao aprendizado de um novo comportamento motor. Além disso, seria observado um deslocamento da representação motora do território estriatal associativo para o sensorio-motor e do córtex cerebelar para os núcleos profundos (DOYON et al., 2003, 2009; DOYON; BENALI, 2005).

Quando ocorre a consolidação (na segunda fase), o indivíduo atinge o platô da sua curva de aprendizado e o desempenho se torna automático. Neste momento, o cerebelo não seria mais essencial e a retenção de longo prazo da habilidade envolveria alterações representacionais no estriado e regiões corticais motoras associadas (DOYON et al., 2003, 2009; DOYON; BENALI, 2005).

Por último, quando um comportamento motor bem estabelecido é recrutado novamente, os mesmos sistemas corticais-subcorticais seriam reativados e acredita-se que o armazenamento de longo prazo de habilidades motoras sequenciais dependa da atividade do sistema córtico-estriatal. Vale ressaltar que esta proposta se aplica apenas ao aprendizado motor, uma vez que o fenômeno de adaptação motora estabelece uma relação diferente com estes mesmos substratos neurais ao longo de cada uma das três fases, culminando com o armazenamento de longo prazo no sistema córtico-cerebelar e não no sistema córtico-estriatal (DOYON et al., 2003, 2009; DOYON; BENALI, 2005).

Após analisar separadamente as contribuições do córtex motor primário (M1), do cerebelo e dos núcleos da base, Penhune e colaboradores propuseram um novo modelo integrado do aprendizado motor sequencial, baseado no modelo descrito anteriormente (PENHUNE; STEELE, 2012). Segundo estes autores, o aprendizado de uma sequência motora ocorre graças a processos paralelos que interagem entre si, tais como: correção de erros, formação de modelos internos, associação estímulo-resposta e representação da sequência. De acordo com este modelo, a função nos núcleos da base é aprender associações probabilísticas ou preditivas entre estímulo e resposta

e/ou entre movimentos individuais em uma sequência. O papel do cerebelo é adquirir os modelos internos ótimos para a execução de uma determinada sequência de movimentos em um dado contexto, contribuindo também para a correção de erros e controle de um movimento em andamento. Por fim, M1 armazena a representação ou 'mapa' da sequência aprendida, provavelmente como parte de uma rede difusa que inclui o lobo parietal e o córtex pré-motor (PENHUNE; STEELE, 2012). Ao contrário do modelo anterior, que prevê o envolvimento diferencial de cada região em cada etapa do aprendizado, este modelo propõe que ambos os circuitos (o sistema córtico-estriatal e o sistema córtico-cerebelar) contribuem simultaneamente para a aquisição de uma sequência motora, sendo que o grau de envolvimento de cada um deles irá depender das exigências da tarefa e da fase do aprendizado. Assim, o sistema córtico-estriatal contribui principalmente para o aprendizado explícito e espacial/sequencial dos movimentos (associado a um processo de aprendizado mais rápido) e o sistema córtico-cerebelar para correção e otimização de parâmetros de controle motor (associado a um processo de aprendizado implícito e sensório-motor mais lento) (PENHUNE; STEELE, 2012).

Porém, nenhum destes modelos atribui um papel ativo e/ou específico ao sono (WALKER et al., 2002; FISCHER et al., 2002; MEDNICK et al., 2003; NISHIDA; WALKER, 2007; KORMAN et al., 2007) ou ao hipocampo (ALBOUY; STERPENICH; et al., 2013) na consolidação de memórias motoras, apesar das evidências experimentais claramente apontarem nesta direção.

Neste contexto, surgiu o modelo proposto por Albouy e colaboradores, que em linhas gerais defende que o sistema hipocampal desencadearia a potencialização do desempenho dependente do sono, enquanto que o sistema

estriatal estaria envolvido com a manutenção do comportamento motor ao longo do tempo (ALBOUY; KING; et al., 2013). Este modelo categoriza o aprendizado motor em três etapas: 1) treino inicial; 2) processamento off-line; e 3) reteste.

1. Treino inicial. Durante a primeira etapa, interações em larga escala supervisionadas pelo córtex pré-frontal, entre os sistemas córtico-hipocampal e córtico-estriatal asseguram a implementação, respectivamente, do componente espacial (abstrato) e do componente motor (concreto) da representação do engrama motor. Estas interações iniciais ‘marcariam’ os engramas otimamente adquiridos para sofrer processos de consolidação subsequentes dependentes do sono. Além disso, estas respostas dinâmicas dariam suporte ao desenvolvimento de diferentes representações de traços de memória que subsequentemente deverão seguir vias de processamento off-line distintas.

2. Processamento off-line. Na segunda etapa, cada uma destas representações (separadas, porém capazes de interagir entre si) segue o seu rumo: a representação espacial, originada através do sistema córtico-hipocampal durante a fase inicial de aprendizado necessita do sono para a sua consolidação, enquanto que a representação motora proporcionada pelo sistema córtico-estriatal se instala progressivamente ao longo do tempo (não dependendo diretamente do sono, mas sendo assim mesmo facilitada por este). Os autores postulam ainda que, em linha com a hipótese da consolidação ativa de sistemas (detalhada na seção 1.3.1), as redes neuronais hipocampais participariam da consolidação da memória ao fortalecer as conexões sinápticas entre estruturas estriatais e frontais através da reativação dependente da experiência durante o sono pós-treino (ALBOUY; KING; et al.,

2013). Ainda de acordo com a hipótese da consolidação ativa de sistemas, a atividade dos fusos do sono que supostamente subsidia o deslocamento de uma representação mnemônica do hipocampo para o neocórtex, também já foi associada à consolidação de memórias procedurais (NISHIDA; WALKER, 2007; LAVENTURE et al., 2016).

Quando este modelo foi proposto em 2013 ainda não existiam evidências diretas da ocorrência de reativações de redes neuronais durante o sono diretamente atreladas à consolidação de habilidades motoras, o que mudou em 2015 com o estudo pioneiro de Ramanathan e colaboradores (RAMANATHAN et al., 2015). Neste trabalho foi mostrado que em ratos, após o aprendizado de uma habilidade motora realizada com os membros superiores: 1) o sono promoveu um aumento da velocidade de realização do movimento com preservação da precisão; 2) este aumento estava relacionado tanto com reativação de redes neuronais no córtex motor durante o sono NREM, quanto com um deslocamento temporal que uniu mais fortemente as redes motoras corticais aos movimentos (sendo que nenhum destes efeitos foi evidente durante a restrição de sono); 3) os eventos de reativação foram associados à ocorrência de oscilações lentas e fusos do sono; 4) os neurônios que exibiram eventos de reativação mais consistentes também foram aqueles que mais fortemente se correlacionaram com os deslocamentos temporais e ligação com a tarefa motora (RAMANATHAN et al., 2015). Porém, este estudo deixou em aberto a questão da origem destes eventos de reativação, se foram ou não diretamente desencadeados pelo hipocampo (RAMANATHAN et al., 2015). Independentemente desta lacuna no conhecimento, está claro que a consolidação de habilidades motoras sequenciais, à semelhança do que

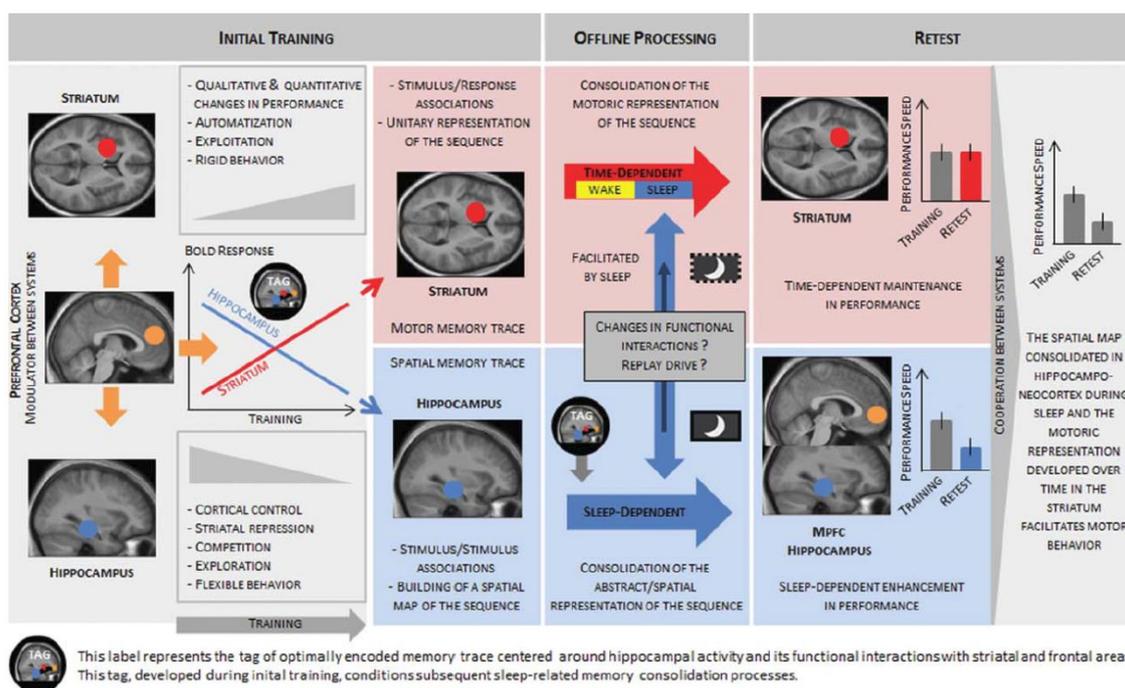
acontece com as memórias declarativas e como postulado pela hipótese da consolidação ativa de sistemas, envolve (pelo menos nos seus estágios iniciais) o hipocampo, é em parte dependente do sono (para consolidação do componente espacial do comportamento motor) (ALBOUY; KING; et al., 2013) e mais especificamente da reativação de redes neuronais estabelecidas no córtex motor (RAMANATHAN et al., 2015).

3. *Reteste*. Durante o reteste, após uma noite de sono, os sistemas hipocampal e estriatal cooperam entre si para a execução correta e melhorada do movimento, com o mapa espacial sendo consolidado durante o sono pelas redes hipocampo-frontais e a representação motora desenvolvida ao longo do tempo pelas redes estriatais. Contudo, a melhora do desempenho só será observada se o traço mnemônico for ‘marcado’ pela atividade hipocampal durante o treino inicial para consolidação durante o sono, uma vez que o sistema estriatal por si só não parece ser suficiente para desencadear este processo (ALBOUY; KING; et al., 2013).

Este modelo pode também ser usado para explicar a atual controvérsia na literatura acerca da necessidade ou não de um episódio de sono após o aprendizado motor para a sua consolidação (CAI; RICKARD, 2009; PAN; RICKARD, 2015; NETTERSHEIM et al., 2015). É possível que estes estudos não tenham encontrado um benefício decorrente do sono porque as tarefas utilizadas para avaliar o aprendizado motor não permitem uma separação clara entre os componentes espacial e motor do movimento, ao contrário do que foi feito no estudo de Albouy e colaboradores (ALBOUY; FOGEL; et al., 2013).

A figura 9 ilustra as interações funcionais entre o hipocampo, estriado e córtex pré-frontal, ao longo de cada uma das fases da consolidação de uma memória motora.

FIGURA 9 – MODELO DA CONSOLIDAÇÃO DA MEMÓRIA MOTORA



FONTE: Adaptado de ALBOUY et al. (2013)

LEGENDA: Em vermelho, os processos mediados pelo estriado, em azul os processos mediados pelo hipocampo e em laranja a ação intermediadora do córtex pré-frontal, durante três etapas da formação de uma memória motora (treino inicial, processamento off-line e reteste).

1.3 PAPEL DO SONO NA CONSOLIDAÇÃO DA MEMÓRIA

1.3.1 Hipóteses

Várias hipóteses têm sido propostas para explicar de que forma o sono proporcionaria a janela temporal e neuroquímica ideal para dar suporte ao processo de consolidação da memória (revisado em RASCH; BORN, 2013).

A primeira hipótese levantada propunha que o sono teria apenas um papel passivo de proteção contra interferência retroativa: por atuar como um ‘abrigo temporário’ da interferência causada pela aquisição de novas informações, o sono protegeria traços mnemônicos mais antigos do decaimento. Contudo, rapidamente ficou claro que o papel do sono deveria ir muito além de uma proteção passiva, uma vez que a arquitetura do sono (se mais rica em SWS ou em sono REM) influenciava diretamente o processo de consolidação, como mostraram os estudos de ‘metade da noite’ (do inglês, *half night paradigm*) (revisado em RASCH; BORN, 2013).

Outra proposta, conhecida como a hipótese ‘dormir para esquecer, dormir para lembrar’, já admite um papel ativo do sono e em particular do estágio REM na consolidação da memória. Ela defende que após um evento com elevada carga emocional, o sono REM seria responsável por fortalecer a representação mnemônica desse evento e ao mesmo tempo atenuar o tom emocional a ele atrelado, ou seja, diminuindo a resposta emocional quando essa memória é evocada (WALKER; HELM, 2009). Contudo, uma edição especial da revista *Neurobiology of Learning and Memory* dedicada exclusivamente ao tema ‘o papel do sono REM na formação da memória’ defende que as evidências da influência atenuadora do sono REM sobre o tom afetivo de uma memória ainda são conflitantes (RASCH; BORN, 2015).

Já segundo a hipótese do processo dual, cada fase de sono teria uma contribuição diferencial para a consolidação da memória: o SWS seria especialmente benéfico para a consolidação de memórias declarativas e o sono REM para memórias não declarativas. Esta hipótese recebeu suporte dos estudos de ‘metade da noite’, mas foi alvo de críticas em uma revisão recente

que demonstrou que as evidências do papel do sono REM para a consolidação de memórias não declarativas são na verdade escassas (ACKERMANN; RASCH, 2014).

As atenções voltaram-se então para a hipótese sequencial, que aposta na importância da sucessão cíclica do sono de ondas lentas e do sono REM para a formação da memória. Em uma primeira etapa, durante o SWS as memórias adaptativas seriam fortalecidas e as restantes seriam enfraquecidas e em seguida, durante o sono REM, as memórias adaptativas seriam integradas e armazenadas em redes semânticas pré-existentes. Apesar de atraente, esta hipótese ainda não foi submetida a testes experimentais (revisado em RASCH; BORN, 2013).

Por último, a hipótese da consolidação ativa de sistemas integra aspectos tanto da hipótese do processo dual quanto da hipótese sequencial. De acordo com esta proposta, informações novas são codificadas em paralelo em redes neuronais localizadas no hipocampo e no neocórtex. Durante o sono, em particular durante o SWS, as redes neuronais utilizadas durante a vigília para aquisição de uma informação nova são reativadas sucessivas vezes, o que levaria a um fortalecimento dos traços mnemônicos e a uma maior independência do local de armazenamento temporário (o hipocampo), com integração em esquemas cognitivos pré-existentes presentes em um local de armazenamento de longo prazo (o neocórtex). Este processo seria dependente da ocorrência finamente regulada das oscilações lentas provenientes do córtex, dos fusos do sono provenientes do tálamo e dos *ripples* do hipocampo (oscilações com 100-300 Hz de frequência) (BORN et al., 2006).

O corpo de evidências experimentais que dão suporte a esta teoria será detalhado na seção a seguir.

1.3.2 Evidências da consolidação ativa de sistemas

Para entender como as evidências experimentais dão suporte aos postulados da hipótese da consolidação ativa de sistemas, primeiro é importante conhecer melhor as características dos dois principais tipos de oscilações que ocorrem durante o sono: as oscilações lentas e os fusos do sono.

As oscilações lentas são ondas de baixa frequência (0,5 a 1 Hz) e alta amplitude definidas por alterações entre períodos de despolarização neuronal (*up-state*) e hiperpolarização neuronal (*down-state*). Juntamente com a banda delta (1 – 4 Hz), as oscilações lentas formam a chamada atividade de ondas lentas (0,5 – 4 Hz; do inglês *slow wave activity* - SWA) característica do sono de ondas lentas e tida como propriedade emergente de redes neuronais corticais (GENZEL et al., 2014).

Uma das propriedades das oscilações lentas é a sua capacidade de agrupar outras oscilações, principalmente oscilações provenientes do tálamo, como os fusos do sono (revisado em GENNARO, DE; FERRARA, 2003).

Os fusos do sono são oscilações de frequência entre 12 e 15 Hz (banda sigma), com duração entre 0,5 a 3 s e formato fusiforme característico (grupo de ondas cuja amplitude aumenta e decresce gradualmente). A sua origem

pode ser rastreada até os neurônios gabaérgicos do núcleo reticular do tálamo, que atua como um marca-passo dos fusos (GENNARO, DE; FERRARA, 2003).

Os fusos do sono têm sido implicados em pelo menos três funções: transmissão sensorial, plasticidade sináptica/memória e desenvolvimento neuronal (LÜTHI, 2013). Quanto à transmissão sensorial, os fusos parecem ser particularmente eficientes em 'vetar' a ativação sensorial do córtex sendo, portanto, elementos centrais na responsividade reduzida observada durante o sono. Quando um som de 400 Hz foi apresentado a adultos jovens por 300 ms durante o sono NREM sem fusos foi detectada por ressonância magnética funcional uma considerável ativação cortical, mas quando o mesmo estímulo foi apresentado exatamente durante a ocorrência de um fuso em sono NREM, a ativação cortical foi praticamente nula (DANG-VU et al., 2011). Dado que os fusos são eventos curtos e transientes, parece que durante o sono NREM a desconexão sensorial varia constantemente entre períodos de responsividade nula e reduzida, porém ainda significativa, a estímulos ambientais. Dito de outra forma: é como se janelas temporais fossem periodicamente abertas para permitir que um estímulo sensorial alcance o córtex durante o sono NREM (LÜTHI, 2013).

Mas o papel dos fusos do sono não se restringe a uma função passiva de proteção, eles também proporcionam descargas corticais sincronizadas e a plasticidade sináptica a elas associada (LÜTHI, 2013). A relação entre os fusos do sono e o aprendizado e memória já foi demonstrada em vários estudos. Em indivíduos com um nível alto de habilidade, o desempenho em uma tarefa motora se correlacionou positivamente com a densidade de fusos no primeiro episódio de sono logo após o aprendizado (PETERS et al., 2007). Em outro

trabalho que utilizou a sesta como paradigma experimental, também foi observada uma correlação entre o desempenho motor e a densidade de fusos no hemisfério contralateral à mão utilizada e em particular na região adjacente ao córtex motor (NISHIDA; WALKER, 2007).

De forma semelhante, as oscilações lentas também têm sido repetidamente implicadas no processamento de informações. Em um estudo sem manipulações das oscilações endógenas próprias do sono foi encontrada uma correlação positiva entre SWA e a consolidação off-line de memórias declarativas e procedurais (HOLZ et al., 2012). Mais especificamente, foi demonstrado que a amplitude das oscilações lentas e a duração do seu *up-state* se correlacionam com o desempenho em tarefas que avaliam memória declarativa (HEIB et al., 2013). Em outro trabalho, foi mostrado que após a sessão de treino no *finger tapping task* há um aumento das oscilações espontâneas delta e sigma na região da área motora suplementar e que este aumento se correlaciona com o desempenho na sessão teste (TAMAKI et al., 2013). Quando a SWA espontânea é potencializada por meio de estimulação craniana por corrente contínua (tDCS) (MARSHALL et al., 2006) ou por estimulação acústica em circuito fechado (NGO; MARTINETZ; et al., 2013) a capacidade de retenção de informações também é igualmente aumentada.

Mas de que forma estas oscilações podem estar contribuindo para a estabilização e armazenamento do aprendizado? Segundo a hipótese da consolidação ativa de sistemas, a consolidação da memória durante o sono se daria graças a repetidos eventos de reativação das redes neuronais hipocampais recrutadas durante o aprendizado, resultando na sua redistribuição gradual para locais de armazenamento de longo prazo.

Evidências experimentais parecem corroborar esta ideia: em um estudo com ratos foi observado que o mesmo padrão de disparo observado durante a exploração de um ambiente novo foi reproduzido durante o episódio de sono seguinte e que estes eventos de *replay* também se correlacionaram com o *replay* observado no córtex (WILSON; MCNAUGHTON, 1994; JI; WILSON, 2007). Este mesmo fenômeno também foi observado em outras regiões como o córtex motor, o estriado e o tálamo (RIBEIRO et al., 2004; GULATI et al., 2014; RAMANATHAN et al., 2015) e não só em roedores como também em humanos (MAQUET et al., 2000; PEIGNEUX et al., 2004).

A hipótese da consolidação ativa de sistema postula ainda que estes eventos de reativação seriam mediados por uma relação íntima entre as oscilações lentas, os fusos e os *ripples* hipocampais. Utilizando registo eletroencefalográfico intracraniano em pacientes epiléticos durante o seu sono natural, Staresina e colaboradores mostraram que, exatamente como havia sido previsto, o *up-state* das oscilações lentas modula a ocorrência dos fusos e estes por sua vez agrupam os *ripples*, proporcionando assim uma janela temporal precisamente ajustada para a transferência de traços mnemônicos do hipocampo para outras regiões neocorticais (STARESINA et al., 2015). A relação causal entre a coordenação temporal destes eventos e a consolidação da memória foi evidenciada em outro estudo, que mostrou que administração da droga Zolpidem (um agonista do receptor Ácido Gama Amino Butírico - A: GABA-A) resultou em um maior acoplamento entre oscilações lentas e fusos, o que por sua vez se correlacionou com a melhora posterior no desempenho em uma tarefa que avalia memória declarativa (NIKNAZAR et al., 2015).

Por último, é postulado também que as reativações hipocampais mediadas por eventos oscilatórios específicos do sono devam resultar não só em um aumento quantitativo da representação de um dado engrama, mas também em modificações qualitativas resultantes da sua integração em redes semânticas relacionadas, tais como: generalização, extração de características invariáveis e o expoente máximo deste processo, a resolução de problemas (STICKGOLD; WALKER, 2013; LANDMANN et al., 2014). O trabalho pioneiro de Wagner e colaboradores (WAGNER et al., 2004) demonstrou o papel facilitador do sono noturno na resolução de problemas utilizando a tarefa de redução numérica. Este resultado foi corroborado também no Laboratório de Cronobiologia da UFPR, porém em um episódio curto de sono diurno, utilizando um jogo de computador que exigia raciocínio lógico para a sua resolução (BEIJAMINI et al., 2014).

Em resumo, é possível concluir que a hipótese da consolidação ativa de sistemas apresenta considerável respaldo na literatura e que os seus postulados se aplicam não só a memórias declarativas como também a memórias motoras, como sugerido pelas evidências experimentais: 1) do envolvimento do hipocampo no aprendizado motor (ALBOUY; STERPENICH; et al., 2013; ALBOUY et al., 2015); 2) da ocorrência de reativações neuronais no córtex motor durante o sono pós-treino (GULATI et al., 2014) e 3) da associação entre as reativações, as oscilações lentas e os fusos e a subsequente melhora no desempenho observada durante o reteste (RAMANATHAN et al., 2015).

1.3.3 Técnicas de potencialização do efeito do sono sobre a memória

Atualmente atravessamos um período marcado pela quantidade estonteante de informação disponível, um fenômeno global e inevitável que impacta o mercado de trabalho, as nossas relações sociais e o nosso mundo interior (entenda-se, neste contexto, modos de cognição) (LAZARTE, 2000). A principal mercadoria da sociedade da informação continua crescendo exponencialmente e frente às exigências acadêmicas cada vez maiores e às relações cada vez mais competitivas no mundo do trabalho (especialmente em momentos de crise econômica), o indivíduo sente-se frequentemente sobrecarregado pela pressão constante de 'acompanhar o ritmo'. Não raro, a esse sentimento se junta um senso de autocrítica demasiado elevado, ansiedade social e tendências depressivas (KOLLIGIAN; STERNBERG, 1991).

Assim, a neurociência tem demonstrado um interesse cada vez maior em desenvolver métodos que permitam não só restaurar os níveis de funcionamento cognitivo ao 'normal' em indivíduos com alguma patologia, mas também aumentá-lo acima do 'normal', em indivíduos saudáveis (DIEKELMANN, 2014; FELD; DIEKELMANN, 2015). Por 'normal', entenda-se a faixa de valores de desempenho em testes cognitivos padrão dentro da qual, por convenção, é esperado que se situe o desempenho de indivíduos sem nenhuma patologia.

Dado o extensivamente documentado papel do sono no funcionamento cognitivo e em particular na consolidação da memória (RASCH; BORN, 2013) e visto que o sono é a única janela temporal que permanece relativamente imune à avalanche informacional que vivemos, não é de surpreender que este se

tenha tornado o principal alvo das intervenções propostas até ao momento. Estas intervenções podem ser agrupadas em três principais abordagens, que serão descritas a seguir: 1) manipulação de sistemas de neurotransmissores; 2) manipulação de oscilações específicas do sono; 3) manipulação da reativação da memória durante o sono.

Manipulação de sistemas de neurotransmissores: Apesar dos mecanismos exatos pelos quais cada neurotransmissor influencia o processamento da memória ainda não serem bem compreendidos, alguns estudos têm reportado bons resultados utilizando esta abordagem (RASCH et al., 2009; MEDNICK et al., 2013; FELD; LANGE; et al., 2013). Por exemplo, potencializar a transmissão glutamatérgica pela administração do agonista parcial do receptor N-Metil-D-Aspartato (NMDA) D-cicloserina durante o sono resultou em uma melhora da consolidação de memórias semânticas, em relação a uma noite sem a administração de nenhuma substância (FELD; LANGE; et al., 2013). Já a administração do inibidor da recaptção de noradrenalina Reboxetina foi associada a um aumento do número de fusos do sono e a uma facilitação da consolidação de uma memória motora avaliada pelo *finger tapping task*, mas não pelo *mirror tracing* (RASCH et al., 2009). Por outro lado, aumentar a densidade de fusos do sono com o agonista de GABA-A Zolpidem produziu resultados variados: ao mesmo tempo que fortaleceu a consolidação de memórias semânticas e de conteúdo emocional negativo, prejudicou o aprendizado perceptual e não afetou memórias motoras sequenciais (MEDNICK et al., 2013; KAESTNER et al., 2013).

Como qualquer outra intervenção farmacológica, alterar o equilíbrio delicado de neurotransmissores que sustentam a consolidação da memória

pode não só não produzir os resultados esperados como também causar efeitos indesejados. Assim sendo, esta abordagem deve ser cuidadosamente avaliada antes de ser amplamente disponibilizada à população em geral, principalmente em indivíduos saudáveis nos quais os riscos possam não superar os benefícios deste tipo de intervenção.

Manipulação de oscilações específicas do sono: Considerando o corpo de evidências citado na seção 1.3.2 correlacionando oscilações específicas do sono como as oscilações lentas e fusos com os mecanismos de consolidação da memória, seria previsível que uma das possíveis abordagens adotadas para cercar este problema concentrasse esforços em manipular diretamente estes fenômenos. Neste sentido, duas principais técnicas têm sido utilizadas: a estimulação transcraniana por corrente contínua e a estimulação auditiva em circuito fechado (do inglês *auditory closed-loop stimulation*).

Em 2006, Marshall e colaboradores aplicaram durante o sono uma corrente contínua na frequência de 0,75 Hz (a mesma frequência das oscilações lentas endógenas) no crânio de um grupo de participantes e verificaram um aumento na atividade de ondas lentas e um desempenho superior em uma tarefa que avalia memória declarativa, quando comparados ao controle sem estimulação (MARSHALL et al., 2006). Mais recentemente foi demonstrado que aplicar tDCS durante a sesta pode facilitar não só a consolidação como também a aquisição de novas informações (ANTONENKO et al., 2013). No entanto, resultados divergentes podem ser encontrados na literatura, com estudos relatando que tDCS aplicada durante o sono de ondas lentas não produz resultados superiores ao grupo *Sham* no que diz respeito à

consolidação de memórias declarativas (EGGERT et al., 2013; SAHLEM et al., 2015).

A estimulação auditiva por circuito fechado na mesma frequência das oscilações lentas endógenas seria outro meio de atingir o mesmo fim: aumentar a SWA e potencializar a consolidação de informações recém-aprendidas (NGO; CLAUSSEN; et al., 2013; NGO; MARTINETZ; et al., 2013; NGO et al., 2015). Esta técnica se baseia na detecção em tempo real de oscilações lentas e fusos e na subsequente estimulação auditiva (e não elétrica) do indivíduo durante a fase positiva (*up-state*) das oscilações lentas (NGO; MARTINETZ; et al., 2013). Uma vez que tanto a segurança quanto a eficácia da técnica de tDCS ainda são questionáveis, especialmente quando se pensa em exposição crônica, o uso da estimulação auditiva de circuito fechado poderia ser uma alternativa mais viável e 'natural' para enriquecer o sono com SWA (BELLESI et al., 2014). Contudo, vale lembrar que a literatura ainda carece de mais estudos nesta área até que qualquer manipulação das oscilações específicas do sono seja efetivamente considerada segura e eficaz.

Manipulação da reativação da memória durante o sono. Esta abordagem, batizada de reativação direcionada da memória (OUDIETTE; PALLER, 2013), tem fortes raízes na hipótese da consolidação ativa de sistemas (BORN et al., 2006). A metodologia é relativamente simples: é necessário apenas que durante o aprendizado seja apresentado um determinado estímulo (sonoro ou auditivo), que ficará associado à informação que está sendo adquirida. Posteriormente, esse mesmo estímulo é reapresentado durante o próximo período de sono. A proposta é de que, expor o indivíduo a um elemento pertencente ao contexto no qual se deu o aprendizado desencadeie

reativações sucessivas das redes neuronais envolvidas na codificação das informações a ele associadas, potencializando a sua consolidação (OUDIETTE; PALLER, 2013; SCHOUTEN et al., 2016). Desta forma, dentro da imensa gama de material assimilado durante a vigília, o encéfalo é munido de uma ferramenta que permite triar, selecionar e priorizar conteúdos mais relevantes ou urgentes. Na ausência destes artifícios, outros componentes são recrutados para servir como guias do processo de triagem, tais como: saliência emocional de uma memória, intenção de evocar esse conhecimento futuramente, grau de novidade e possibilidade de ganhar uma recompensa pela retenção de uma dada informação (OUDIETTE; PALLER, 2013).

Esta técnica foi utilizada em um estudo pioneiro de autoria de Björn Rasch e colaboradores (RASCH et al., 2007). Neste trabalho, os autores mostraram que o desempenho em uma tarefa que avalia memória declarativa melhora apenas se a pista contextual, no caso um odor, fosse apresentada durante o aprendizado e durante o episódio de sono seguinte, particularmente durante o SWS. Este benefício não foi observado se a pista fosse omitida durante o aprendizado ou se a rerepresentação da mesma se desse na fase de sono REM ou na vigília. Mostraram ainda que este protocolo não funcionou quando aplicado a uma tarefa que avalia memória procedural, nomeadamente a *finger tapping task* (FTT). Por fim, e como previsto pela hipótese da consolidação ativa de sistemas, a apresentação da pista olfativa durante o sono de ondas lentas levou à ativação do hipocampo (RASCH et al., 2007).

Em linha com as previsões desta hipótese, a reativação direcionada tem efeitos opostos sobre a consolidação de memórias declarativas quando realizada durante o sono ou durante a vigília: ao passo que durante o sono a

pista contextual e conseqüentemente as reativações que ela desencadeia tornam uma dada informação mais estável (ou seja, resistente à interferência), durante a vigília a mesma pista torna a informação mais lábil (ou seja, susceptível à interferência) (DIEKELMANN et al., 2011). Nesse estudo, os indivíduos aprendiam uma série de associações entre pares de imagens de objetos e sua localização (como o popular 'Jogo da Memória'), na presença de um odor. Imediatamente em seguida, durante o intervalo de retenção, que poderia ser ocupado por um período de sono ou vigília, os indivíduos eram expostos ao mesmo odor (ou ao veículo inodoro). Ao término do intervalo de retenção, os indivíduos realizavam a mesma tarefa, porém com os mesmos pares de imagens em novas localizações (para causar interferência com o aprendizado anterior). Ao reteste, era avaliada a capacidade de lembrar as posições originais (e não as aprendidas durante a sessão de interferência). Aqueles que foram submetidos à reativação por pista olfativa durante o sono mostraram-se mais resistentes à influência da sessão de interferência do que aqueles que sofreram reativação durante a vigília (DIEKELMANN et al., 2011).

Ainda de acordo com a hipótese da consolidação ativa de sistemas, o benefício proporcionado pelas reativações espontâneas que ocorrem em 90 minutos de sono (sem o uso de pistas contextuais externas, portanto) pode ser obtido em apenas 40 minutos de sono se potencializados pela reativação direcionada de memórias (DIEKELMANN et al., 2012).

Uma característica peculiar desta ferramenta é a sua especificidade: é necessário congruência na apresentação da pista olfativa (ou seja, deve ser sempre a mesma) para que resultados positivos sejam observados e a valência da pista (se um dado odor é considerado agradável ou desagradável) não

interfere na sua eficácia, desde que o mesmo odor esteja presente tanto durante o aprendizado quanto durante o período de sono subsequente (RIHM et al., 2014).

A utilização de uma pista contextual de outra natureza (um som, em vez de um odor), produziu resultados semelhantes (RUDOY et al., 2009). Neste trabalho diferentes sons foram associados a imagens conceitualmente relacionadas (por exemplo, a imagem de um gato e o som de um miado), localizadas em diferentes posições da tela de um computador. Metade destes sons foi então reapresentada durante uma sesta (ao longo do sono NREM). Ao acordar, a posição das imagens cujos sons haviam sido repetidos durante a sesta era lembrada com maior precisão do que a das imagens cujos sons associados não haviam sido reproduzidos. Assim, da mesma forma que os odores, os sons também parecem eliciar um padrão de reativações altamente específico (RUDOY et al., 2009). E de forma semelhante, levam à ativação do córtex parahipocampal (DONGEN, VAN et al., 2012).

Outra evidência de que o hipocampo é necessário para o sucesso da TMR veio de um estudo com pacientes com esclerose uni e bilateral do hipocampo, no qual a magnitude do fortalecimento da memória foi diretamente proporcional ao volume hipocampal poupado. Em outras palavras, quanto maior a integridade estrutural do hipocampo, maior o benefício comportamental observado (FUENTEMILLA et al., 2013).

Além disso, a utilização de sons como pistas também permite potencializar o desempenho em tarefas que avaliam habilidades motoras, desde que o som seja um componente intrínseco da tarefa (ANTONY et al.,

2012; SCHÖNAUER et al., 2014). Isto significa que o *feedback* auditivo é produzido pelo próprio participante à medida que ele realiza a tarefa, na qual invariavelmente deverá aprender a apertar uma determinada sequência de teclas com a maior precisão possível. Assim, um trabalho mostrou que após aprender a tocar duas melodias durante a vigília, o desempenho no reteste só melhorou naquela que havia sido reproduzida durante o período de sono seguinte (ANTONY et al., 2012). Em outro estudo, apenas metade de uma sequência motora foi reproduzida durante o sono e como hipotetizado, apenas o desempenho referente a essa parte se beneficiou da TMR (SCHÖNAUER et al., 2014).

Porém, como já foi ressaltado na seção 1.3.2, durante o sono a memória sofre alterações não só quantitativas, mas também qualitativas, quais como: abstração de regras, extração da essência (do inglês *gist*), integração em redes semânticas pré-existentes e surgimento de conhecimento explícito acerca de uma habilidade aprendida implicitamente (STICKGOLD; WALKER, 2013; LANDMANN et al., 2014). Será que a TMR também poderia potencializar estas transformações qualitativas da memória? Estudos mostram que sim, tanto no domínio da memória declarativa (STERPENICH et al., 2014) quanto procedural (COUSINS et al., 2014), este último de particular interesse para o presente trabalho. Cousins e colaboradores mostraram que reapresentação de pistas auditivas durante o sono facilitou o surgimento de conhecimento explícito de uma sequência numérica aprendida implicitamente durante a execução da tarefa de habilidade motora *serial reaction time task* (SRTT) (COUSINS et al., 2014).

Contudo, a eficácia da reativação direcionada de memórias no domínio das habilidades motoras ainda é controversa: enquanto que dois trabalhos com estimulação olfativa reportaram resultados negativos quanto à ocorrência de alterações quantitativas (RASCH et al., 2007) ou qualitativas (DIEKELMANN et al., 2016) em memórias procedurais, três trabalhos com estimulação auditiva (ANTONY et al., 2012; SCHÖNAUER et al., 2014; COUSINS et al., 2014) e um com estimulação olfativa (LAVENTURE et al., 2016) relataram benefícios quantitativos (ANTONY et al., 2012; SCHÖNAUER et al., 2014; LAVENTURE et al., 2016) e qualitativos (COUSINS et al., 2014) após a aplicação de TMR.

É interessante notar então que uma técnica que já se mostrou benéfica para a memória declarativa (RASCH et al., 2007), memória emocional (HAUNER et al., 2013), criatividade (RITTER et al., 2012), aprendizado de línguas estrangeiras (SCHREINER; RASCH, 2015) e até para a cognição social (HU et al., 2015), disponha de tão poucas evidências de sucesso no campo das habilidades motoras, a despeito da sobreposição parcial dos mecanismos neurais que suportam ambos os tipos de memória (ALBOUY; KING; et al., 2013) e de várias potenciais aplicações clínicas ou cotidianas da TMR no contexto da memória procedural (reabilitação após doenças cerebrovasculares ou refinamento das habilidades motoras em músicos ou cirurgiões).

Em resumo, é possível concluir que, das três abordagens atualmente disponíveis para potencializar o efeito do sono sobre a cognição, a reativação direcionada da memória é a menos invasiva (sem o uso de fármacos ou estimulações elétricas), é a mais simples em termos metodológicos (não necessita de um software sofisticado para detecção do *up-state* das oscilações lentas e consequente estimulação, como é o caso da estimulação auditiva em

circuito fechado) e aquela que possui mais evidências na literatura da sua eficácia em diversos domínios da cognição, desde a memória até à criatividade (revisados em SCHOUTEN et al., 2016).

1.4 HIPÓTESE EXPERIMENTAL E JUSTIFICATIVA

As evidências que nos levaram a postular a hipótese testada neste trabalho serão apresentadas a seguir, agrupadas em quatro categorias: 1) o papel do sono (e em particular da sesta) na consolidação da memória procedural; 2) a relação entre oscilações lentas, fusos, reativação neuronal espontânea e consolidação da memória procedural; 3) a relação entre reativação neuronal induzida por pistas sensoriais e consolidação da memória procedural; 4) a relação entre estimulação somatossensorial e consolidação da memória procedural.

Sono e memória procedural. As primeiras evidências sugerindo um papel do sono na consolidação de memórias motoras sequenciais são provenientes de estudos que mostraram que quando o intervalo entre treino e teste era preenchido por um episódio de sono noturno, o ganho off-line era superior a um período igual de vigília (WALKER et al., 2002; FISCHER et al., 2002). Estes resultados foram confirmados também durante episódios curtos de sono diurno, ou seja, durante a sesta, tanto para habilidades motoras sequenciais (NISHIDA; WALKER, 2007; KORMAN et al., 2007) quanto para outras habilidades motoras, como o aprendizado perceptual (MEDNICK et al., 2003).

Em estudos com sono noturno, o controle em vigília é feito ou durante o dia (momento circadiano diferente) ou durante a noite (causando, portanto

privação de sono). Desta forma, é sempre possível alegar que os efeitos deletérios observados durante a vigília são artefatos decorrentes do treino e teste ocorrerem em momentos diferentes nos grupos sono e vigília ou do estresse proveniente da privação de sono. Como modelo experimental, a sesta tem a vantagem de escapar destes problemas, uma vez que o treino e o teste ocorrem no mesmo horário em ambos os grupos e o grupo controle não é submetido à restrição ou privação de sono (PAN; RICKARD, 2015).

Oscilações, reativação espontânea e memória procedural. Acredita-se que as oscilações lentas e os fusos do sono seriam as assinaturas neurais do processo natural de reativação neuronal (RASCH; BORN, 2013; ATHERTON et al., 2015). Já foi mostrado que durante o sono pós-treino na tarefa FTT é possível observar um aumento de oscilações delta espontâneas na área motora suplementar e que este aumento se correlaciona com o desempenho no reteste (TAMAKI et al., 2013). Além das ondas delta, os fusos do sono, particularmente abundantes durante o estágio NREM 2, também estão associados à magnitude dos ganhos off-line (NISHIDA; WALKER, 2007). Os padrões de disparo registrados no hipocampo (WILSON; MCNAUGHTON, 1994) e no córtex motor (GULATI et al., 2014) durante o aprendizado são espontaneamente repetidos durante o sono pós-treino (GULATI et al., 2014) e estão associados à consolidação de habilidades motoras (RAMANATHAN et al., 2015).

Reativação por pistas externas e memória procedural. A rerepresentação de pistas sensoriais durante o sono já se mostrou eficaz em potencializar o efeito do sono sobre a consolidação de habilidades motoras sequenciais de forma altamente específica, afetando só a sequência-alvo (e não outra aprendida ao

mesmo tempo mas não reativada) (ANTONY et al., 2012) ou dentro de uma mesma sequência, apenas as transições-alvo (e não o restante da sequência não reativada) (SCHÖNAUER et al., 2014). Tanto o estágio NREM 2 quanto os fusos do sono parecem ser instrumentais na consolidação de memórias procedurais mediada pelas reativações induzidas por pistas sensoriais (LAVENTURE et al., 2016). Curiosamente, ao invés de aumentar o número absoluto de reativações que ocorreriam durante o sono, a introdução de uma pista sensorial durante o sono parece enviesar quais redes seriam preferencialmente reativadas em favor daquelas que foram associadas à pista durante o aprendizado (BENDOR; WILSON, 2012).

Estimulação somatossensorial e memória procedural. A estimulação elétrica somatossensorial repetitiva transcutânea durante a vigília tem sido usada para reabilitar as habilidades motoras de vítimas de acidente vascular encefálico (AVE), além de se mostrar útil em potencializar a consolidação de memórias motoras em voluntários saudáveis (revisado em VELDMAN et al., 2014). Uma vez que o aporte de informações sensoriais é essencial para a execução motora correta, e dado que os córtices motor (M1) e somatossensorial (S1) primários estão intimamente conectados, postula-se que a estimulação periférica leve à ativação de S1 que por sua vez ativaria M1, aumentando a excitabilidade cortical e desencadeando mecanismos tipo potenciação de longo prazo (do inglês *LTP - like mechanisms*), que seriam importantes para a aquisição e retenção de habilidades motoras (VELDMAN et al., 2014, 2016). Além da estimulação elétrica, também já foi mostrado que a estimulação tátil mecânica também promove respostas corticais sensório-motoras ipsi- e contralaterais à mão estimulada (HADOUSH et al., 2010). Por outro lado, os

estudos com a técnica de TMR têm mostrado que, ao contrário do observado com a apresentação de pistas sensoriais durante o sono, a estimulação durante a vigília resulta em labilização dos traços mnemônicos e aumento da susceptibilidade ao fenômeno de interferência, pelo menos no domínio das memórias declarativas (DIEKELMANN et al., 2011). No caso de memórias procedurais, estimulação durante a vigília não surtiu qualquer efeito (ANTONY et al., 2012; SCHÖNAUER et al., 2014).

Em resumo, as evidências atualmente disponíveis na literatura sugerem que tanto o sono noturno quanto a sesta facilitam a consolidação de habilidades motoras sequenciais e que este efeito deve ser mediado por eventos específicos do sono como as oscilações lentas e fusos, que seriam as assinaturas eletroencefalográficas do processo endógeno de reativação neuronal, que por sua vez contribui para a estabilização de um dado engrama. Estas reativações neuronais, que ocorrem tanto no hipocampo quanto no córtex motor, podem ser manipuladas por meio da exposição a pistas sensoriais durante o sono, resultando em reativação e consolidação preferencial das informações associadas a estas pistas. É sabido que as aferências somatossensoriais são fundamentais para guiar e aperfeiçoar os movimentos e que a estimulação somatossensorial durante a vigília resulta em facilitação da consolidação de habilidades, tanto em indivíduos saudáveis quanto em pacientes com AVE. Contudo, até onde sabemos, nenhum trabalho até o momento relatou o uso de uma estimulação tátil como pista sensorial apresentada durante o sono com o intuito de potencializar a consolidação de uma habilidade motora, via reativações neuronais. Neste contexto, surgiu a ideia para este trabalho, no qual procuramos determinar se a utilização de uma

estimulação tátil durante a fase NREM 2 de uma sesta como pista sensorial potencializa o efeito do sono sobre a consolidação de uma habilidade motora sequencial, avaliada pelo *finger tapping task*. Para verificar se os efeitos da estimulação são dependentes do sono, comparamos os resultados com um grupo que foi estimulado durante a vigília. Devido à alta especificidade que a técnica de TMR demonstrou em estudos anteriores, realizamos a estimulação em duas sequências diferentes: uma igual à praticada durante o treino e outra sem nenhuma transição em comum com a praticada, para determinar se este fator poderia ou não afetar os resultados. Hipotetizamos que 1) o grupo sono controle teria um desempenho superior ao grupo vigília controle; 2) o grupo estimulado com a sequência treinada durante o sono teria um desempenho superior ao grupo estimulado com a sequência não treinada, que por sua vez seria superior ao grupo sono controle (*Sham*); 3) os grupos estimulados durante a vigília teriam desempenho inferior ao grupo estimulado durante o sono; 4) o desempenho dos grupos sono se correlacionaria com a densidade de oscilações lentas e fusos do sono, principalmente após estimulação com a sequência treinada.

Desvendar os mecanismos de consolidação de memórias procedurais dependentes do sono poderia abrir novas possibilidades de reabilitação de vítimas de acidente vascular encefálico ou outras patologias que comprometem a execução de habilidades motoras, além de oferecer meios de aperfeiçoar movimentos finos como os realizados por músicos ou cirurgiões. Soma-se a isso a importância de destrinchar as condições ótimas para realização da reativação direcionada da memória, tais como o tipo de estímulo ideal para cada tipo de habilidade cognitiva, o estágio de sono mais propício ao

processamento destes estímulos e o grau de congruência necessário entre a tarefa e o estímulo para que este seja eficaz.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito de uma estimulação tátil mecânica durante a sesta sobre a consolidação de uma memória motora.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o efeito da estimulação tátil mecânica dos dedos durante o estágio NREM 2 da sesta sobre a consolidação de uma memória motora avaliada por meio do *finger tapping task*, em uma amostra de adultos jovens saudáveis;

- Analisar o efeito da estimulação tátil dos dedos durante o estágio NREM 2 da sesta sobre a macro e microarquitetura da sesta, incluindo a densidade e distribuição topográfica de fusos e oscilações lentas;

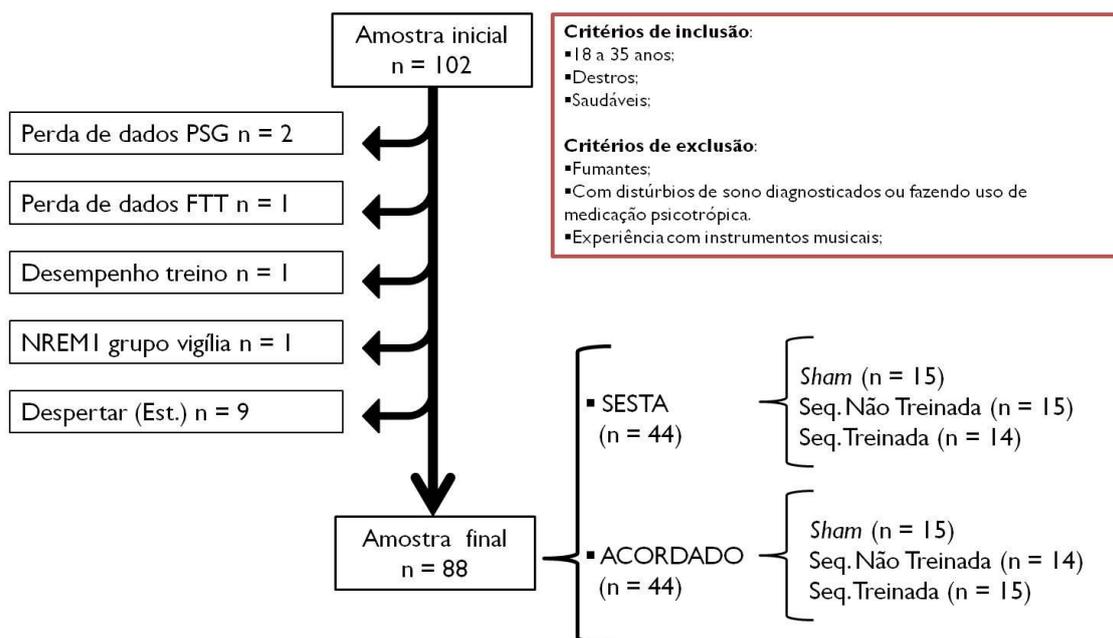
- Correlacionar o ganho off-line no desempenho motor com variáveis da macro e microarquitetura da sesta.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 PARTICIPANTES

Alunos da Universidade Federal do Paraná (UFPR) foram convidados a participar deste trabalho por meio de panfletos, anúncios online e em sala de aula. Um total de 102 alunos foram selecionados para participar deste estudo. Os critérios de inclusão utilizados para triagem foram: idade entre 18 e 35 anos, ser destro e saudável. Os critérios de exclusão foram: fumar, diagnóstico prévio de distúrbios de sono, doenças psiquiátricas e/ou uso de medicação psicotrópica e experiência musical (definida como prática regular de um instrumento musical nos últimos 5 anos), pois é sabido que músicos, especialmente pianistas, têm um desempenho superior em tarefas que avaliam habilidades motoras finas (AOKI et al., 2005), como é o caso do FTT. Todas as informações utilizadas durante a triagem foram obtidas diretamente dos voluntários, por meio de questionários. Catorze participantes foram excluídos de todas as análises devido a: perda de dados de polissonografia ($n = 2$), perda de dados da tarefa motora aplicada ($n = 1$), desempenho pré-intervenção menor que 2 desvios - padrão da média geral ($n = 1$), detecção de sono NREM 1 em integrantes do grupo acordado ($n = 1$) e incapacidade de voltar a dormir após um despertar provocado pela estimulação ($n = 9$). Desta forma, o número final de alunos que completaram todas as etapas do experimento e cujos dados foram efetivamente coletados e analisados foi de $n = 88$ (ver figura 10). Todos os participantes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética do Setor de Saúde da UFPR, CAAE nº 01783212.2.0000.0102 (ver Anexos) e realizado Laboratório de Cronobiologia do Departamento de Fisiologia da UFPR.

FIGURA 10 – TRIAGEM DOS PARTICIPANTES



FONTE: O autor (2016).

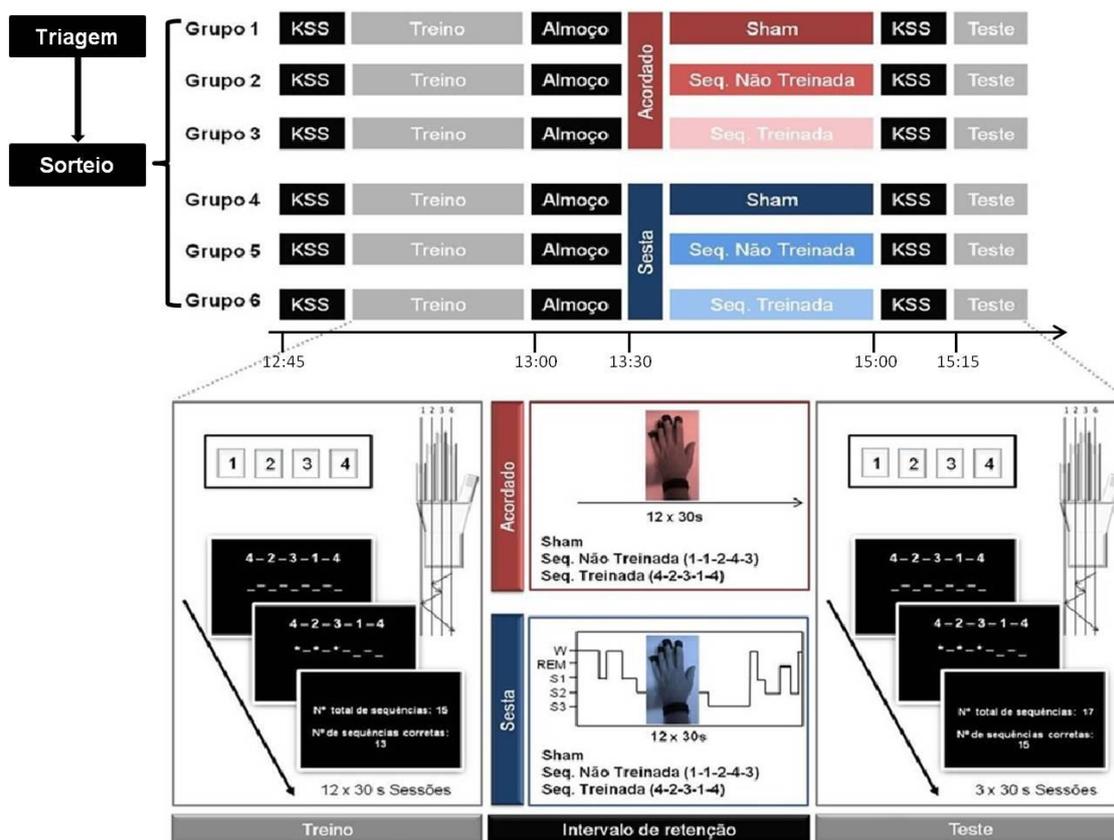
3.2 DESENHO EXPERIMENTAL

Após o preenchimento dos questionários de triagem, os participantes foram selecionados de acordo com os critérios citados na seção 3.1. O ciclo vigília-sono de cada voluntário foi monitorado por sete dias consecutivos por meio de um actímetro e um diário de sono. Na noite anterior ao experimento cada participante foi instruído a não consumir bebidas alcoólicas ou estimulantes (com cafeína). No dia do experimento, cada participante retornou ao laboratório ao meio dia e foi preparado para o registro polissonográfico. O experimento teve início por volta das 12:45 h, com o preenchimento da escala de sonolência subjetiva KSS e realização da sessão de treino do FTT. Após o treino, uma refeição leve foi oferecida ao voluntário pelo laboratório e este foi aleatoriamente designado para um grupo experimental, dentre os seis

possíveis: em três dos grupos os participantes dormiam uma sesta de 90 min e nos outros três o mesmo intervalo de tempo era passado em repouso, porém em vigília. Caso ao término dos 90 min o voluntário se encontrasse em SWS, o tempo na cama foi prolongado até que fosse observada na polissonografia uma transição de fase de sono ou despertar, para evitar que o mesmo sentisse os efeitos da inércia de sono ao acordar, o que poderia comprometer o seu desempenho (apesar desta concessão, devido à latência de sono e tempo acordado após o início de sono, nenhum voluntários apresentou um tempo total de sono superior a 90 min). Os participantes dos grupos Acordado assistiram a um seriado de comédia durante o intervalo de retenção.

Além das condições Sesta/Acordado, o participante poderia: a) não receber estimulação (*Sham*); b) receber estimulação mecânica tátil em uma sequência igual à praticada durante o treino (Seq. Treinada: 4-2-3-1-4) ou c) receber estimulação em uma sequência diferente da praticada (Seq. Não Treinada: 1-1-4-2-3). Transcorrido o tempo definido, todos os voluntários preencheram novamente a escala KSS e realizaram a sessão teste da tarefa de habilidade motora FTT. Entre o final do intervalo de retenção e o início da sessão de teste todos os participantes tiveram um intervalo de tempo de aproximadamente 15 min para dissipar a inércia de sono nos grupos Sesta (e igualar o horário de teste nos grupos Acordado). A figura 11 apresenta um esquema com o desenho experimental deste trabalho.

FIGURA 11 – DESENHO EXPERIMENTAL



FONTE: O autor (2016).

LEGENDA: Após o processo de triagem os voluntários foram sorteados para participar de um dos seis grupos experimentais. Aproximadamente às 12:45 os participantes responderam a escala de sonolência Karolinska (KSS) e logo em seguida iniciaram a sessão de treino da tarefa FTT, que consiste em 12 sessões de 30 s cada durante as quais os voluntários devem digitar a sequência 4-2-3-1-4 com a mão não dominante da forma mais rápida e precisa possível. Ao final de cada sessão era fornecido feedback ao participante acerca do seu desempenho (ver painel inferior). Na sequência foi servida uma refeição leve e por volta das 13:30 teve início o intervalo de retenção. Em três dos grupos experimentais, os voluntários permaneceram acordados durante este período de tempo (grupos 1 a 3) e nos três grupos restantes os voluntários tiveram a oportunidade de dormir uma sesta de até 90 min (grupos 4 a 6). Dois grupos não receberam nenhuma estimulação (*Sham*), dois grupos receberam estimulação em sequência diferente da praticada no treino (*Seq. Não Treinada*: 1-1-2-4-3) e dois grupos receberam estimulação em sequência igual à praticada no treino (*Seq. Treinada*: 4-2-3-1-4). A estimulação à qual os grupos 2, 4, 5 e 6 foram submetidos foi do tipo mecânica e tátil, aplicada na ponta dos dedos da mão utilizada para a digitação (ver foto no painel inferior). Nos grupos Sesta, a estimulação foi aplicada após 5 min consecutivos de sono NREM 2. Nos grupos Acordado, a estimulação foi aplicada 30 min após o início do intervalo de retenção. Ao término deste intervalo (em torno das 15:00), todos os participantes responderam novamente ao KSS e realizaram a sessão de teste da tarefa FTT, que consiste em 3 sessões de 30 s cada (ver painel inferior).

3.3 QUESTIONÁRIOS

Os voluntários responderam a três questionários antes da realização do experimento: o primeiro para determinação do cronotipo (Horne-Ostberg - HO) (BURNE; MOORE, 1993) e da sonolência traço (Epworth Sleepiness Scale - ESS) (JOHNS, 1991); o segundo sobre hábitos de sono e estado de saúde e o último sobre o comportamento e estado de saúde nas 24 h anteriores ao experimento, incluindo perguntas sobre a ingestão de cafeína, álcool e outras drogas. Durante o experimento, antes de cada sessão da tarefa de digitação os participantes responderam à escala subjetiva de sonolência Karolinska (KSS) (AKERSTEDT; GILLBERG, 1990) para indicar o quão sonolentos se sentiam naquele momento.

Todos os dados coletados por meio de questionários foram digitalizados e analisados: informações relativas ao estado de saúde e comportamento no dia anterior ao experimento foram utilizadas como fator de triagem e os dados de cronotipo, sonolência traço e estado foram computados e comparados entre os grupos.

3.4 ACTIMETRIA

Os participantes foram solicitados a utilizar um actímetro, um instrumento semelhante a um relógio de pulso que coleta dados gerados por movimentos (SADEH; ACEBO, 2002), modelo ActiWatch (Mini-Motionlogger, Zero Crossing Mode, Ambulatory Monitoring Inc., EUA). O aparelho foi colocado na mão não dominante (esquerda) e utilizado durante os sete dias que antecederam o experimento. Além disso, os voluntários preencheram um

diário de sono com perguntas relativas ao horário de dormir e despertar e períodos nos quais o actímetro foi retirado. As informações obtidas por meio do diário de sono foram utilizadas como auxílio na análise da actimetria, levada a cabo no programa Action W versão 2.6 9801 (Ambulatory Monitoring Inc.). As seguintes variáveis foram extraídas: horário de dormir, horário de acordar, e duração de sono. Para estas variáveis foram analisadas as médias dos sete dias, assim como os dados da noite anterior ao experimento. Alguns dados foram perdidos por uso indevido do actímetro por parte do voluntário ou por falha do aparelho. Desta forma, dos 88 voluntários que participaram do estudo restou um total de 68 actimetrias completas (isto é, com dados de todos os sete dias), ou seja, o número amostral final de dados do FTT e PSG analisados foi de 88, enquanto que de actimetria esse número caiu para 68, com as restantes 20 tendo sido descartadas da análise.

3.5 POLISSONOGRAFIA E ANÁLISE DO EEG

Neste estudo foi utilizado o sistema internacional de posicionamento de eletrodos 10-20 e polissonógrafo da marca RESPIRONICS (Alice 5). Foi feito o registro de F3, F4, C3, C4, O1, O2 e referências M1, M2, além do EMG (dois eletrodos) e EOG (dois eletrodos), num total de 12 eletrodos.

O estagiamento do sono foi feito off-line de acordo com as regras do Manual da Associação Americana de Medicina do Sono (IBER et al., 2007).

As variáveis obtidas por polissonografia para análise da macroarquitetura da sesta foram: tempo total de sono em minutos (TTS), latência de sono em minutos (Lat), tempo acordado após o início do sono em

minutos (WASO), duração em minutos e percentual (relativo ao TTS) de NREM 1, NREM 2, NREM 3 e REM e número de despertares (despertares).

Para uma análise exploratória da microarquitetura da sesta foi utilizada uma *toolbox* personalizada (SpiSOP, Frederik Weber, Alemanha) baseada no *software* Fieldtrip (OOSTENVELD et al., 2011) e implementada no programa Matlab 2014a (Mathworks, Natick, EUA). As análises de força espectral e a detecção de oscilações lentas e fusos do sono foram efetuadas em épocas de sono NREM consecutivas, livres de artefatos identificados visualmente, utilizando um algoritmo já publicado (MÖLLE et al., 2002). A força espectral nas bandas de frequência de oscilações lentas (0.5 - 1 Hz), delta (1 - 4 Hz), teta (4 - 8 Hz), e fusos do sono (12 - 15 Hz) e a densidade (número de eventos por época) das oscilações detectadas (oscilações lentas e fusos) foi calculada e comparada entre os grupos, tanto no período total de sono quanto no período específico durante o qual a estimulação tátil ocorreu. Para esta segunda análise, as doze épocas (sendo que cada época tem duração de 30 s) durante as quais o participante foi estimulado foram selecionadas e analisadas separadamente. Os dados provenientes desta seleção foram doravante chamados de período '*on*'. Da mesma forma, as épocas de pausa entre cada estimulação (doravante chamadas de período '*off*') também foram individualmente selecionadas para cada participante e serviram como controle intraparticipante do efeito da estimulação sobre o EEG. No grupo *Sham*, a primeira época após 5 min consecutivos de NREM 2 foi selecionada como a primeira época '*on*' e a seguinte como a primeira época '*off*' e assim por diante até à 12^a época '*on*' e '*off*'. Estes dados foram utilizados para comparação do

efeito da estimulação entre grupos. Os dados dos eletrodos frontais (F3 e F4) e centrais (C3 e C4) foram analisados e reportados separadamente.

3.6 FINGER-TAPPING TASK

Esta tarefa é um teste de habilidade motora que consiste na digitação repetida de uma sequência de cinco elementos, a saber: "4-2-3-1-4", com os dedos da mão não dominante, da forma mais rápida e precisa possível (WALKER et al., 2002). A sequência numérica a ser digitada em um teclado de computador comum está sempre disponível na tela, para reduzir ao mínimo o uso da memória de trabalho. A sessão de treino teve duração de 12 minutos e consistiu em doze blocos. Cada bloco foi composto por 30 segundos de digitação e 30 segundos de descanso, totalizando um minuto. A sessão de teste foi constituída por três blocos e teve duração de três minutos (30 segundos de digitação e 30 segundos de descanso).

A curva de aprendizado por plotada com base no número médio de sequência corretamente digitadas por grupo, por bloco (12 blocos de treino e 3 blocos de teste). O desempenho motor foi obtido por meio do número médio de sequências corretamente digitadas nas três últimas sessões do treino e nas três sessões de teste por grupo.

O ganho off-line foi avaliado de acordo com a fórmula abaixo, onde $Teste_c$ refere-se à média do nº de sequências corretamente digitadas nos três blocos da sessão de teste e $Treino_c$ refere-se à média do número de sequências corretamente digitadas nos três últimos blocos da sessão de treino:

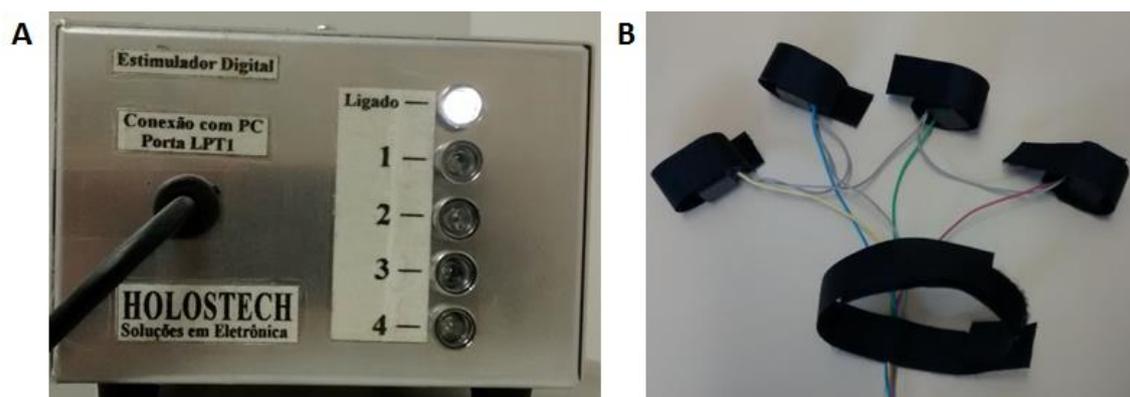
$$\text{Ganho offline (\%)} = (\text{Teste}_c - \text{Treino}_c) \div \text{Treino}_c \times 100$$

Esta fórmula computa simultaneamente velocidade e precisão, ao considerar apenas o número de sequências corretas digitadas.

3.7 ESTIMULAÇÃO TÁTIL

Para realizar a estimulação tátil mecânica desenvolvemos um equipamento especialmente designado para esta função, ao qual chamamos de estimulador tátil digital (ver figura 12).

FIGURA 12 – O ESTIMULADOR



FONTE: O autor (2016).

LEGENDA: Em A, o estimulador e em B, o atuador.

O estimulador é composto por duas partes: um *hardware* e um *software*. Um dos componentes do *hardware* é o atuador, responsável por gerar o estímulo. O atuador foi produzido por meio de um relé de 12 V de uso geral. Verificamos que o campo eletromagnético gerado pelos relés e condutores que o energizam não foi elevado o suficiente para interferir com o EEG. Os atuadores foram colocados na ponta dos dedos das pessoas (a mesma região

que entra em contato com o teclado durante a execução da tarefa de digitação) e fixados através de Velcro. O estimulador tátil digital produziu uma leve pressão na ponta dos dedos, semelhante à experiência de digitar em um teclado de computador comum. Este estímulo era, portanto, de natureza mecânica (e não elétrica) e tátil (e não nociceptiva). O *software* foi projetado para controlar a estimulação por meio de um algoritmo, a partir do qual é possível determinar os seguintes parâmetros: duração do estímulo, tempo entre estímulos, nº de estímulos por bloco, número de blocos e sequência na qual cada dedo é estimulado.

A estimulação simulou uma sessão de treino, com doze blocos, cada um com 30 segundos de estimulação ('*on*') e 30 segundos de pausa ('*off*'), evitando assim habituação aos estímulos.

O número de sequências completas reproduzidas pelo estimulador em cada bloco foi determinado individualmente para cada participante de acordo com o número máximo de sequências corretas digitadas durante o treino. A sequência na qual cada dedo foi estimulado poderia ser igual à praticada durante o treino (4-2-3-1-4, sequência treinada) ou diferente (1-1-2-4-3, sequência não treinada). A sequência não treinada foi selecionada de forma a evitar sobreposição com a sequência original, ou seja, nenhum dedo é estimulado na mesma ordem. A estimulação tátil foi feita durante o sono, após cinco minutos consecutivos de estágio NREM 2 ou durante o período de vigília equivalente, nos grupos controle. Caso fossem observados indícios de despertares durante a estimulação, a mesma era interrompida.

3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os dados estão apresentados na forma de média (erro padrão), exceto pelos dados de desempenho motor no treino e no teste que incluem ainda o desvio padrão (DP), coeficiente de variabilidade (CV) e intervalo de confiança (IC 95%). A normalidade foi avaliada com o teste de normalidade de Agostino e Pearson. Os dados paramétricos foram analisados utilizando uma ANOVA de uma via com teste *post hoc* de Tukey e os dados não paramétricos foram analisados utilizando teste de Kruskal Wallis com teste *post hoc* de Dunn, exceto o desempenho na tarefa de habilidade motora FTT, que foi comparado com uma ANOVA de duas vias com os fatores *grupo* (Acordado e Sesta) e *condição* (Sham, Seq. Treinada e Seq. Não Treinada) e teste *post hoc* de Tukey. Os grupos Sham Acordado e Sesta foram comparados isoladamente por teste t não pareado. Comparações intraindividuais da densidade de oscilações lentas e fusos entre os períodos com ('on') e sem ('off') estimulação foram realizadas com testes t pareados e as comparações entre grupos (Sham, Seq. Não Treinada e Seq. Treinada) com ANOVA de uma via com teste *post hoc* de Tukey. As análises de correlação entre o desempenho (ganho off-line em percentual entre o treino e o teste) e as variáveis da macro e microarquitetura da sesta foram realizadas utilizando correlação de Pearson. O valor de significância aceito foi de $p < 0,05$.

4. RESULTADOS

As características da amostra estudada como idade, distribuição de sexos por grupo entre outras estão disponíveis na tabela 2 e serão discutidas em maior detalhe na seção 4.2, em conjunto com outras variáveis de controle.

4.1 DESEMPENHO MOTOR E GANHO OFF-LINE

O aprendizado na tarefa de habilidade motora FTT foi analisado entre os grupos antes da intervenção experimental, para determinar se até ao final da fase de treino todos haviam atingido um desempenho similar. Para isso, as curvas de aprendizado foram plotadas e a média do número de sequências corretamente digitadas nos últimos três blocos do treino foi comparada entre os seis grupos por meio de uma ANOVA de uma via.

Não foram encontradas diferenças significativas ($p > 0,4$; figura 13 A), sugerindo que todos foram capazes de aprender a executar a tarefa e atingir níveis comparáveis de desempenho ao final do treino. Os restantes dados de desempenho motor (valores médios e medidas de dispersão por grupo) do treino (média dos 3 últimos blocos) e teste estão apresentados na tabela 2.

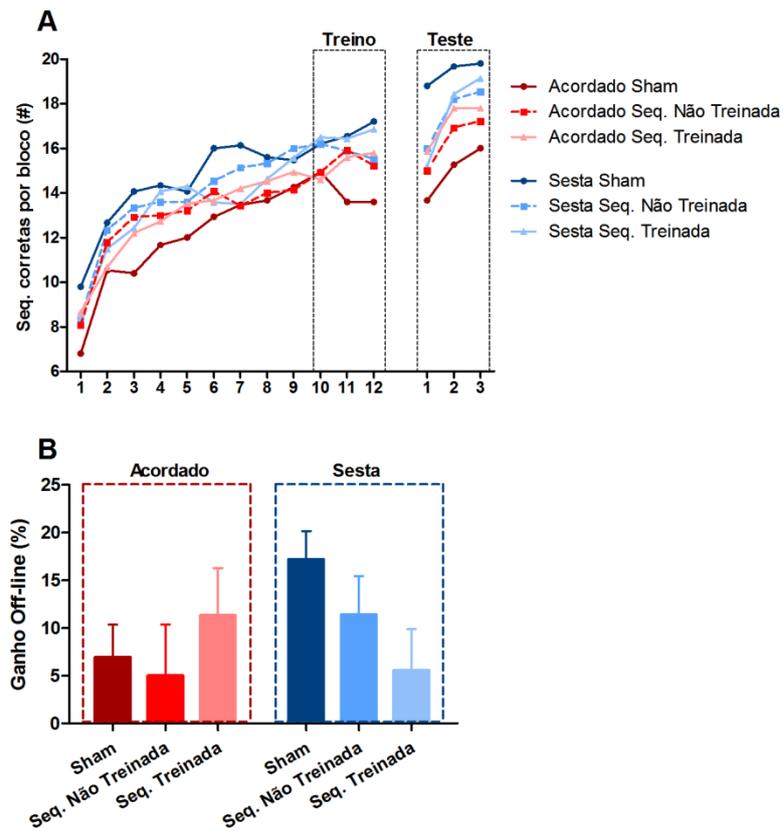
Para avaliar o efeito da intervenção experimental sobre o ganho off-line no FTT calculamos a diferença em percentual do número de sequências digitadas ao final do treino e do teste. Ao utilizar valores percentuais em vez do número absoluto de sequências digitadas pretendemos contornar o problema de dois grupos apresentarem o mesmo ganho (p. ex. 3 sequências), que ainda assim pode refletir benefícios de diferentes magnitudes: por exemplo, de 33 %

em quem havia digitado 10 sequências ao final do treino ou de 15 % em quem já havia digitado 20.

Os dados obtidos foram comparados com uma ANOVA de duas vias com os fatores grupo (Acordado e Sesta) e condição (*Sham*, Seq. Não Treinada e Seq. Treinada). Contrariamente ao esperado, não foi detectado efeito de grupo ($F_{(1,81)} = 1,10$; $p = 0,30$) ou condição ($F_{(2,82)} = 0,53$; $p = 0,59$), nem interação entre os dois ($F_{(2,82)} = 1,94$; $p = 0,15$; figura 13 B). Além disso, é interessante notar que, caso a diferença de desempenho entre as três condições no grupo Sesta fosse significativa ainda assim ela seguiria exatamente na direção oposta do esperado, ao seja, ao invés de potencializar o efeito do sono, a estimulação tátil na verdade parece ser prejudicial ao comportamento motor.

Para determinar se pelo menos o efeito benéfico do sono sobre a consolidação da habilidade motora avaliada pelo FTT já descrito na literatura (NISHIDA; WALKER, 2007) havia sido efetivamente replicada no presente trabalho, analisamos os grupos *Sham* Acordado e Sesta isoladamente. Verificamos que, como esperado, o grupo *Sham* Sono apresentou um ganho off-line significativamente superior ao grupo *Sham* Acordado ($t_{(28)} = 2.26$, $p = 0,032$).

FIGURA 13 – DESEMPENHO NA TAREFA FTT



FONTE: O autor (2016).

LEGENDA: A) Curva de aprendizado representando a média de seqüências corretamente digitadas em cada bloco, por grupo. Não estão representadas medidas de dispersão para não dificultar a visualização dos resultados. Não foram detectadas diferenças significativas entre os grupos ao final do treino ($p > 0,4$). B) Ganho Off-line (%) após o intervalo de retenção. Não foi encontrado efeito de grupo ($p = 0,30$) ou condição ($p = 0,59$), nem interação entre ambos ($p = 0,15$), com uma ANOVA de duas vias. As barras representam os valores médios e erro padrão por grupo.

TABELA 2 - DESEMPENHO MOTOR

		ACORDADO			SESTA		
		SHAM	SEQ. NÃO TREINADA	SEQ. TREINADA	SHAM	SEQ. NÃO TREINADA	SEQ. TREINADA
Treino	Min	8	8	12	9	11	
	Max	18	22	25	24	22	21
	Média (E)	14,1 (0,6)	15,3 (1,0)	15,4 (1,3)	16,7 (1,0)	16,6 (1,0)	16 (0,7)
	DP	2,3	3,8	4,9	3,9	4,1	2,9
	CV (%)	16,46	25,1	31,8	23,4	24,8	17,8
	IC _{inf}	12,9	13,2	12,6	14,5	14,2	14,4
	IC _{sup}	15,4	17,4	18,3	18,8	18,9	17,6
Teste	Min	10	9	8	13	9	13
	Max	19	26	32	29	28	25
	Média (E)	15,0 (0,7)	17,1 (1,3)	16,3 (1,9)	19,4 (1,2)	17,5 (1,5)	17,6 (0,9)
	DP	2,8	5,1	7,0	4,6	5,6	3,5
	CV (%)	18,3	29,7	43,3	23,7	32,1	20,0
	IC _{inf}	13,5	14,3	12,2	16,9	14,3	15,7
	IC _{sup}	16,5	20,0	20,4	21,9	20,7	19,6

FONTE : O autor (2016).

LEGENDA : Todos os dados relativos ao treino referem-se à média dos três últimos blocos. Os dados relativos ao teste referem-se à média de todos os três blocos que constituem esta sessão. E (erro padrão), DP (desvio-padrão), CV (coeficiente de variação), IC (intervalo de confiança 95% inferior e superior).

4.2 VARIÁVEIS DE CONTROLE

O número amostral e proporção de cada sexo, as médias de idade e pontuação obtida nos questionários de preferência diurna (HO), sonolência estado (ESS) e sonolência traço (KSS) de cada grupo estão apresentadas na tabela 2.

As informações a seguir são relevantes para a interpretação dos resultados. No questionário de preferência diurna, os resultados podem variar de 16 a 86. Quanto mais baixo o valor obtido, maior a tendência à vespertinidade e quanto mais alto o valor, maior a tendência à matutividade. A distribuição de cronotipos na população segue uma curva normal, com indivíduos de cronotipo intermediário representando a maior parcela da

população (BURNE; MOORE, 1993). Esta tendência foi verificada nos dados visto que todos os grupos apresentaram uma distribuição normal, com valores médios de 46.

Quanto à escala de sonolência de Epworth (ESS), os resultados podem variar de 0 a 24. Valores superiores a 10 são indicativos de sonolência diurna excessiva e valores superiores a 16 são geralmente encontrados em pacientes com apnéia do sono (JOHNS, 1991). Os dados indicam que os participantes deste estudo apresentaram níveis normais de sonolência diurna (≤ 10).

Quanto à escala de sonolência Karolinska (KSS), os resultados podem variar de 1 (mais alerta) a 9 (menos alerta). Os valores médios dos participantes variaram em torno de 4, um ponto intermediário entre os dois extremos.

Após comparações destas variáveis entre os grupos, percebemos que os mesmos não diferem significativamente em idade ($p = 0,29$), preferência diurna (HO; $p=0,97$), sonolência traço (ESS; $p = 0,54$) ou sonolência estado, nem antes (KSS1; $p = 0,41$) nem depois (KSS2; $p = 0,74$) do intervalo de retenção (tabela 3).

Em seguida analisamos os dados de actimetria para saber se o padrão de sono dos participantes de cada grupo antes do experimento era equiparável. Comparamos a média dos sete dias (7 dias) e não encontramos diferenças significativas no horário de dormir ($p = 0,77$), horário de acordar ($p = 0,62$) ou duração de sono ($p = 0,21$). Analisamos também a noite anterior ao experimento isoladamente (pré), para verificar se o desempenho no FTT poderia ter sido influenciado por uma possível restrição de sono noturno.

Novamente, não encontramos diferenças significativas entre os grupos no horário de dormir ($p = 0,54$), horário de acordar ($p = 0,24$) ou duração de sono ($p = 0,51$; tabela 4).

Quanto ao número médio de estimulações táteis realizadas por grupo, também não foram encontradas diferenças significativas ($p = 0,92$): o grupo Acordado Seq. Não Treinada recebeu 200 estimulações (erro padrão 16), o grupo Acordado Seq. Treinada recebeu 209 (12), o grupo Sesta Seq. Não Treinada recebeu 203 (13) e o grupo Sesta Seq. Treinada recebeu 195 (15).

TABELA 3 – CARACTERÍSTICAS DA AMOSTRA ESTUDADA

	ACORDADO			SESTA			p	F	KRUSKAL WALLIS
	SHAM	SEQ. NÃO TREINADA	SEQ. TREINADA	SHAM	SEQ. NÃO TREINADA	SEQ. TREINADA			
n	15 (3 H)	14 (3 H)	15 (5 H)	15 (5 H)	15 (6 H)	14 (5 H)	-	-	-
Idade	21,5 (1,0)	23,3 (1,0)	24,1 (1,3)	22,1 (1,1)	23,5 (1,0)	24,9 (1,3)	0,29	-	6,18
H.O.	48,2 (2,5)	49,4 (1,7)	47,1 (2,9)	46,9 (2,7)	44,9 (2,8)	48,4 (3,1)	0,97	-	0,93
ESS	10,0 (0,7)	9,9 (1,0)	8,3 (0,6)	9,7 (1,1)	9,8 (0,8)	8,6 (0,7)	0,54	0,82	-
KSS 1	4,0 (0,4)	4,4 (0,4)	3,9 (0,4)	4,7 (0,3)	4,1 (0,3)	3,7 (0,4)	0,41	1,02	-
KSS 2	4,2 (0,4)	4,9 (0,4)	4,2 (0,4)	4,7 (0,3)	4,7 (0,4)	4,6 (0,4)	0,74	0,55	-

FONTE : O autor (2016).

LEGENDA : média (erro-padrão). Homens (H), questionário de Horne-Ostberg (H.O.), escala de sonolência de Epworth (ESS), escala de sonolência de Karolinska (KSS); O valor de p é referente a uma ANOVA (com teste pos-hoc de Tukey) ou teste de Kruskal-Wallis (com teste pos-hoc de Dunn).

TABELA 4 – PADRÃO DE SONO NOTURNO DA AMOSTRA ESTUDADA

	ACORDADO			SESTA			p	F	KRUSKAL WALLIS
	SHAM	SEQ. NÃO TREINADA	SEQ. TREINADA	SHAM	SEQ. NÃO TREINADA	SEQ. TREINADA			
n (7 dias)	12	12	12	12	8	11	-	-	-
H. dormir	0:23 (0:17)	0:55 (0:26)	0:22 (0:28)	0:25 (0:13)	1:02 (0:41)	0:31 (0:24)	0,77	-	2,56
H. acordar	08:23 (0:18)	08:30 (0:26)	08:13 (0:25)	7:36 (0:21)	08:11 (0:27)	07:58 (0:14)	0,62	-	3,50
Duração (min)	398 (15)	411 (17)	422 (22)	382 (11)	362 (17)	403 (18)	0,21	-	7,21
n (pré)	13	14	14	15	12	14	-	-	-
H. dormir	0:01 (0:21)	0:59 (0:25)	0:13 (0:27)	0:08 (0:24)	0:23 (0:25)	23:51 (0:23)	0,54	-	4,05
H. acordar	07:59 (0:26)	08:15 (0:28)	07:27 (0:22)	7:27 (0:22)	07:11 (0:13)	07:09 (0:15)	0,24	1,39	-
Duração (min)	390 (27)	400 (17)	384 (14)	393 (18)	348 (18)	379 (19)	0,51	0,86	-

FONTE : O autor (2016).

LEGENDA : média (erro-padrão). Horário (H); n (7dias) e n (pré) se referem ao número de actimetrias completas disponíveis para análise da semana anterior ao experimento e dia anterior ao experimento, respectivamente. O valor de p é referente a uma ANOVA (com teste pos-hoc de Tukey) ou teste de Kruskal-Wallis (com teste pos-hoc de Dunn).

4.3 MACRO E MICROARQUITETURA DA SESTA

Os dados obtidos por polissonografia foram analisados para verificar se a macroarquitetura da sesta era semelhante entre os três grupos que tiveram a oportunidade de dormir. Todos os grupos tiveram latência de sono inferior a 10 minutos e duração média de sono em torno de 1 h, um achado semelhante a outro obtido neste mesmo laboratório (BEIJAMINI et al., 2014). A estimulação somestésica não alterou significativamente a macroarquitetura da sesta, uma vez que não foram encontradas diferenças significativas entre os três grupos, em nenhuma das variáveis analisadas (tabela 5).

TABELA 5 – MACROARQUITETURA DA SESTA

	SHAM	SEQ. NÃO TREINADA	SEQ. TREINADA	p	F	KRUSKAL WALLIS
TTS (min)	75,0 (2,1)	73,0 (3,5)	66,8 (2,6)	0,12	2,28	-
Lat (min)	7,5 (1,1)	7,4 (1,1)	8,5 (1,2)	0,57	-	1,15
WASO (min)	11,0 (3,1)	14,6 (2,7)	16,8 (2,3)	0,14	-	3,94
NREM 1 (%)	23,7 (3,3)	30,5 (4,4)	30,8 (3,6)	0,34	1,12	-
NREM 1 (min)	17,7 (2,5)	22,1 (2,9)	20,4 (2,1)	0,79	0,46	
NREM 2 (%)	48,4 (2,8)	48,5 (3,8)	52,2 (3,3)	0,65	0,43	-
NREM 2 (min)	36,3 (2,0)	35,4 (3,0)	34,9 (2,3)	0,09	0,91	
NREM 3 (%)	23,0 (5,0)	16,2 (4,6)	12,6 (3,3)	0,35	2,13	-
NREM 3 (min)	18,0 (4,1)	12,4 (3,6)	9,2 (2,4)	2,41	0,30	
REM (%)	4,9 (1,6)	4,7 (2,3)	4,5 (2,1)	0,72	0,66	-
REM (min)	3,8 (1,2)	3,9 (1,9)	3,2 (1,5)	†0,70	0,71	
Despertares	25,3 (2,9)	35,5 (3,8)	33,4 (3,7)	0,10	2,43	-

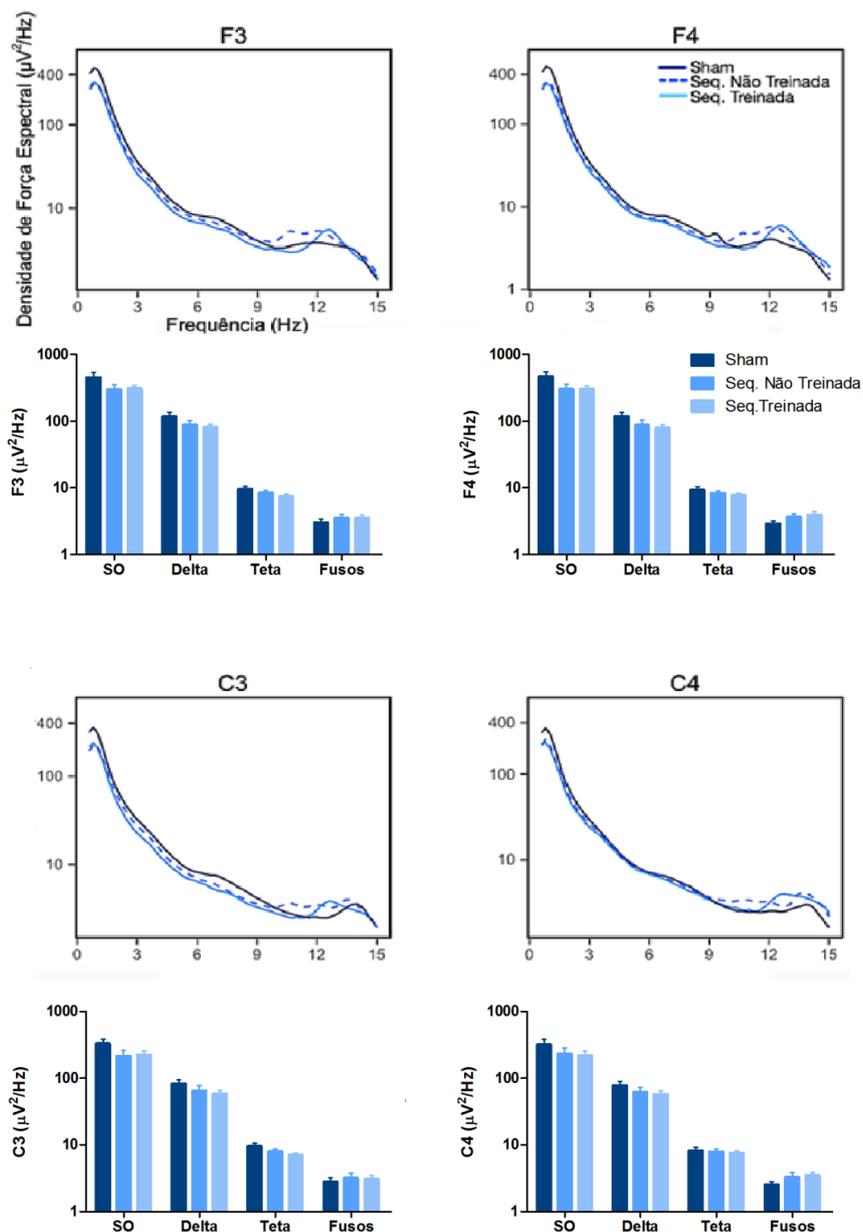
FONTES : O autor (2016).

LEGENDA : média (erro-padrão). TTS (tempo total de sono), WASO (tempo acordado após o início de sono). O valor de p é referente a uma ANOVA (com teste pos-hoc de Tukey) ou teste de Kruskal-Wallis (com teste pos-hoc de Dunn).

Em seguida plotamos os dados de densidade de força espectral das épocas de sono NREM de toda a sesta e comparamos os valores das faixas de frequência de oscilações lentas, delta, teta e de fusos do sono entre os três grupos que tiveram a oportunidade de dormir. Novamente, nenhuma diferença

significativa foi encontrada entre os grupos em nenhuma faixa de frequência ou eletrodo (todos com $p > 0.1$) (figura 14).

FIGURA 14 - DENSIDADE MÉDIA DE FORÇA ESPECTRAL DO SONO NREM DA SESTA, POR GRUPO E POR ELETRODO

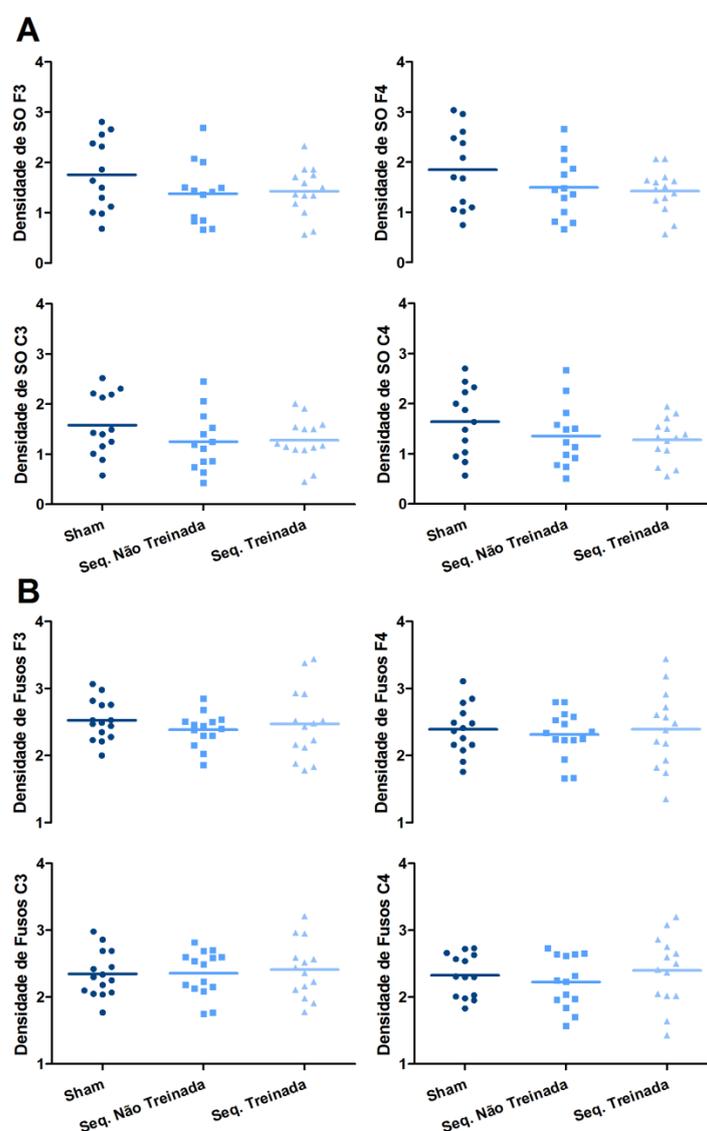


FONTE: O autor (2016).

LEGENDA: No painel superior estão representados os dados dos eletrodos frontais esquerdo (F3) e direito (F4) e no painel inferior dos eletrodos centrais esquerdo (C3) e direito (C4). Nos gráficos de linha foram plotados os dados de densidade de força espectral a cada 0,2 Hz de frequência. Nos gráficos de barras estão representados os cortes e comparações entre grupos nas frequências de interesse: oscilações lentas - SO (0,5 - 1 Hz), delta (1 - 4 Hz), teta (4 - 8 Hz) e fusos (12 - 15 Hz). Notar que em ambos os tipos de gráfico o eixo y está em escala logarítmica de base 10. Não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos em nenhuma das faixas de frequência analisadas, em nenhum eletrodo (ANOVA de uma via, todos com $p > 0.1$).

Além da força espectral, detectamos e quantificamos a densidade de fusos do sono e oscilações lentas (SO) de cada participante dos grupos Sesta nos eletrodos frontais e centrais. Não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos para densidade de oscilações lentas (Figura 15 A) ou de fusos (Figura 14 B), em nenhum dos eletrodos (ANOVA de uma via, todos com $p > 0.1$).

FIGURA 15 – DENSIDADE DE OSCILAÇÕES LENTAS E FUSOS DURANTE A SESTA, POR GRUPO E POR ELETRODO



FONTE: O autor (2016).

LEGENDA: Os pontos representam os dados de cada participante e as linhas a média por grupo. Não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos na densidade de A) oscilações lentas (SO) ou B) fusos em nenhum eletrodo (ANOVA de uma via, todos com $p > 0.1$).

Uma vez que a estimulação propriamente dita só ocupou doze épocas de 30 s cada (lembrando que após cada época de 30 s de estimulação se seguiu um intervalo de igual duração sem estimulação) de uma sesta com duração de sono aproximada de uma hora (~10%), seria possível que qualquer efeito desencadeado pela estimulação tátil não houvesse sido detectado pelas análises iniciais mais 'grosseiras' por ter se diluído no restante dos dados. Para examinar esta possibilidade mais a fundo, selecionados para cada participante apenas as épocas durante as quais se deu a estimulação (referidas como épocas 'on') e as comparamos com as épocas de intervalo sem estimulação (referidas como épocas 'off').

No grupo controle foram selecionadas doze épocas para cada participante onde a estimulação teria ocorrido, de acordo com os critérios previamente estabelecidos para início da estimulação (5 min consecutivos de sono NREM 2) e as doze épocas de intervalo entre elas foram selecionadas como correspondentes aos períodos 'off'.

Como esperado, não foram encontradas diferenças significativas na densidade de oscilações lentas ou fusos entre as épocas 'on' e 'off', no grupo Sham, nem nos eletrodos frontais nem centrais (todos $p > 0,3$, figura 16).

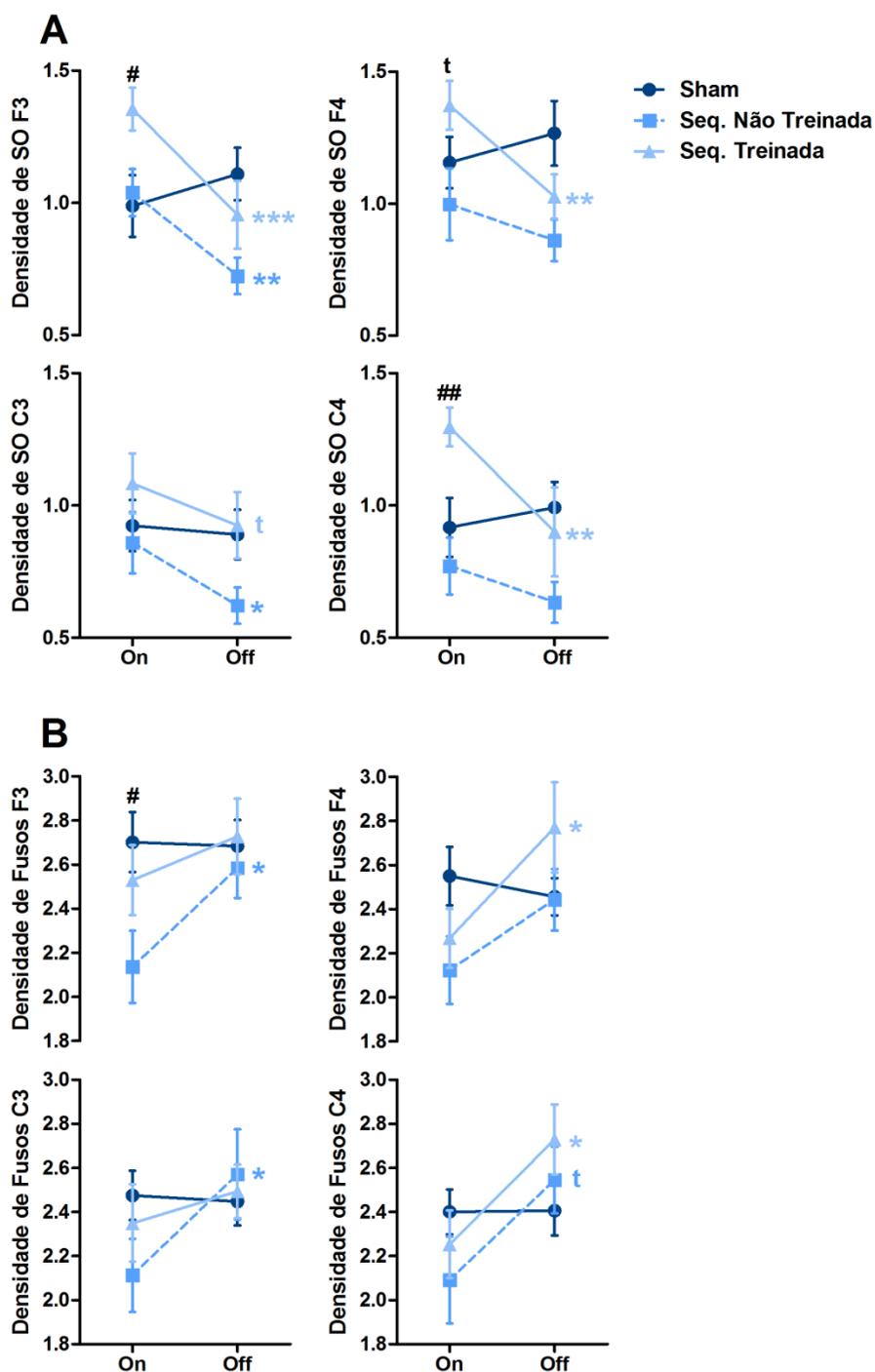
Entretanto, nos grupos que receberam a estimulação, efeitos opostos foram observados na densidade de SO e fusos: enquanto que a densidade de SO aumentou, a densidade de fusos diminuiu durante a estimulação. No entanto, no grupo Seq. Não Treinada estas diferenças só foram significativas no hemisfério esquerdo, ipsilateral à mão estimulada (densidade de SO: F3 $t_{(12)} = 3,74$; $p = 0,003$; C3 $t_{(13)} = 2,57$; $p = 0,023$; figura 15 A; densidade de fusos: F3

$t_{(12)} = 2,41$; $p = 0,033$; C3 $t_{(13)} = 2,79$; $p = 0,015$ figura 15 B). Por outro lado, no grupo Seq. Treinada as diferenças na densidade de fusos só foram significativas no hemisfério direito, contralateral à mão estimulada (densidade de fusos: F4 $t_{(12)} = 3,03$; $p = 0,011$; C4 $t_{(12)} = 2,37$; $p = 0,0035$; figura 16 B), enquanto que as diferenças na densidade de SO foram significativas em todos os eletrodos (F3 $t_{(13)} = 4,51$; $p = 0,0006$; F4 $t_{(13)} = 3,32$; $p = 0,0055$; C4 $t_{(13)} = 3,18$, $p = 0,0073$; figura 14 A), exceto para C3 que apenas beirou a significância ($t_{(13)} = 2,1$; $p = 0,056$; figura 16 A).

Em seguida comparamos apenas as épocas durante as quais a estimulação ocorreu ('on') entre os três grupos. Quanto à densidade de ondas lentas, foram detectadas diferenças em F3 ($F_{(2,41)} = 4,12$; $p = 0,024$) e C4 ($F_{(2,40)} = 7,59$; $p = 0,002$), com F4 beirando significância ($p = 0,066$) (figura 16 A). Em F3 foi observado um aumento significativo da densidade de SO no grupo Seq. Treinada em relação ao grupo Sham ($p = 0,029$). Em C4, o mesmo aumento foi observado, porém tanto em relação ao grupo Sham ($p = 0,024$) quanto ao grupo Seq. Não Treinada ($p = 0,0018$).

Em relação à densidade de fusos, foi detectada uma diferença significativa apenas em F3 ($F_{(2,40)} = 3,63$; $p = 0,036$; todos os outros eletrodos com $p > 0,1$; figura 16 B). Testes *post hoc* revelaram que o grupo Seq. Não Treinada teve uma densidade de fusos menor que o grupo Sham ($p = 0,03$).

FIGURA 16 – DENSIDADE DE OSCILAÇÕES LENTAS E FUSOS DURANTE A ESTIMULAÇÃO, POR GRUPO E POR ELETRODO



FONTE: O autor (2016).

LEGENDA: Comparação de densidade de A) oscilações lentas (SO) e B) fusos entre os períodos com ('on') e sem ('off') estimulação nos grupos Sesta, nos eletrodos frontais e centrais. * indicam diferenças significativas entre os períodos 'on' e 'off' dentro de um mesmo grupo (teste t pareado). $p < 0,1$; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$. # indicam diferenças significativas entre os grupos para os períodos 'on' (ANOVA de uma via). # $p < 0,05$; ## $p < 0,01$ (ver texto para testes *post hoc*).

Por último, o desempenho na tarefa de habilidade motora foi correlacionado com as variáveis da macro e microarquitetura da sesta (densidade total de oscilações lentas e fusos e densidade de oscilações lentas e fusos apenas durante a estimulação ('on'). Nos grupos estimulados (Seq. Não-Treinada e Seq. Treinada) não foi encontrada nenhuma correlação significativa, nem mesmo uma correlação negativa com o número de despertares ou uma correlação positiva com a densidade de oscilações lentas durante a estimulação (que estava aumentada em relação ao grupo *Sham*, como evidenciado na figura 16). No grupo *Sham* foi encontrada apenas uma correlação significativa e positiva com a densidade de fusos em C4 nas épocas 'on' (as 12 épocas de sono NREM 2 durante as quais este grupo teria recebido estimulação caso não fosse o controle *Sham*) ($r = 0,69$; $p = 0,007$). Esta correlação foi altamente específica para o eletrodo em questão (cuja localização é próxima às regiões corticais motoras contralaterais à mão que realizou a tarefa), uma vez que a densidade de fusos em outros eletrodos nem se aproximou da significância (todos com $p > 0,1$). Quando os dados da sesta inteira foram computados (e não apenas as 12 épocas de NREM 2 particularmente ricas em fusos utilizadas para as análises 'on/off') este efeito se diluiu e não mais atingiu a significância ($r = 0,44$; $p = 0,11$). É curioso notar que nos grupos estimulados, nos quais foi registrada uma diminuição da densidade de fusos durante a estimulação em relação ao grupo *Sham*, esta correlação com o desempenho é completamente abolida (Seq. Não Treinada: $r = 0,03$; $p = 0,92$; Seq. Treinada: $r = -0,11$; $p = 0,71$). Os dados referentes à força espectral nas faixas de frequência de oscilações lentas, delta, teta e fusos também foram correlacionados com o desempenho em cada um dos três grupos e dos quatro

eletrodos, porém nenhum deles atingiu significância (todos com $p > 0,1$; dados não mostrados).

Os dados de correlação estão apresentados na tabela 6.

TABELA 6 – CORRELAÇÕES ENTRE O DESEMPENHO E VARIÁVEIS DA MACRO E MICROARQUITETURA DO SONO

	SHAM		SEQUÊNCIA NÃO TREINADA		SEQUÊNCIA TREINADA		
	r	p	r	p	r	p	
TTS (min)	-0,04	0,88	-0,03	0,92	-0,18	0,53	
Lat (min)	-0,24	0,39	-0,12	0,66	-0,24	0,40	
WASO (min)	0,28	0,32	-0,14	0,96	0,05	0,86	
NREM 1 (%)	0,42	0,12	-0,08	0,77	-0,06	0,83	
NREM 1 (min)	0,45	0,09	-0,05	0,87	-0,09	0,77	
NREM 2 (%)	-0,33	0,23	-0,13	0,65	0,16	0,57	
NREM 2 (min)	-0,35	0,19	-0,12	0,66	-0,01	0,98	
NREM 3 (%)	0,02	0,95	0,08	0,77	-0,19	0,51	
NREM 3 (min)	-0,01	0,98	0,03	0,92	-0,18	0,54	
REM (%)	-0,33	0,23	0,20	0,47	0,14	0,63	
REM (min)	-0,35	0,20	0,20	0,47	0,11	0,71	
Despertares	0,23	0,42	-0,09	0,74	0,15	0,61	
Densidade Total de SO	F3	0,06	0,84	0,11	0,70	-0,19	0,51
	F4	0,14	0,63	0,17	0,54	-0,15	0,61
	C3	-0,08	0,77	0,21	0,45	-0,25	0,39
	C4	-0,08	0,78	0,12	0,68	-0,08	0,79
Densidade Total de Fusos	F3	0,17	0,55	0,42	0,13	0,11	0,70
	F4	0,23	0,44	0,01	0,98	0,08	0,78
	C3	0,18	0,52	0,32	0,25	0,06	0,84
	C4	0,44	0,11	0,40	0,16	0,12	0,69
Densidade de SO ('on')	F3	0,25	0,38	0,15	0,62	-0,04	0,90
	F4	0,12	0,67	0,10	0,74	0,10	0,74
	C3	0,32	0,24	0,26	0,37	-0,13	0,67
	C4	-0,039	0,90	0,34	0,25	0,13	0,67
Densidade de Fusos ('on')	F3	0,28	0,31	-0,02	0,96	0,01	0,97
	F4	0,17	0,57	0,22	0,44	-0,18	0,56
	C3	0,32	0,25	0,06	0,85	-0,11	0,71
	C4	0,69	0,007	0,03	0,92	-0,11	0,71

FONTE: O autor (2016).

LEGENDA: TTS (tempo total de sono), WASO (tempo acordado após o início de sono), Oscilações Lentas (SO). Valores de r correspondem à correlação de Pearson. Em negrito está assinalada a correlação com $p < 0,01$.

5. DISCUSSÃO

O presente trabalho analisou o efeito de uma estimulação tátil durante a sesta sobre a consolidação de uma habilidade motora fina. Contrariamente à nossa hipótese inicial, nem o estado de consciência na qual foi esta administrada (vigília ou sono), nem a sequência da estimulação (treinada ou não treinada), surtiram efeito sobre o desempenho motor avaliado pela tarefa de digitação *finger tapping task* quando todos os seis grupos foram analisados conjuntamente.

Contudo, o efeito facilitador do sono na consolidação de habilidades procedurais já descrito na literatura (WALKER et al., 2002; NISHIDA; WALKER, 2007) foi replicado quando apenas os grupos *Sham* Sesta e Acordado foram diretamente comparados. Este resultado tem duas implicações importantes: 1) a ausência de melhora do ganho off-line após a intervenção experimental não deve ser devida a um erro metodológico relacionado com o planejamento, aplicação, execução ou análise dos dados do FTT, visto que os resultados dos grupos *Sham* estão de acordo com o esperado; 2) a maior limitação deste trabalho está provavelmente relacionada com o pequeno número amostral por grupo, uma vez que a diferença no ganho off-line entre os grupos *Sham* apenas, detectada por um teste t não pareado não sobreviveu a uma ANOVA de duas vias, onde todos os grupos foram comparados em simultâneo. É possível que o ganho off-line dos grupos Sesta submetidos à estimulação fosse significativamente inferior ao grupo *Sham* caso o número amostral fosse ampliado.

A análise das variáveis de controle fornece mais evidências para dar suporte a estas implicações e à principal conclusão deste trabalho. Todos os indivíduos que participaram deste experimento eram saudáveis, sem distúrbios de sono diagnosticados ou experiência em instrumentos musicais. Os dados obtidos por meio de questionários mostraram que os seis grupos não diferiram quanto à idade, preferência diurna (HO) e sonolência traço (ESS). Antes da realização das sessões de treino e teste da tarefa de digitação tanto os voluntários dos grupos Acordado quanto os dos grupos Sesta reportaram valores de sonolência estado semelhantes (KSS). Este resultado replicou outro deste mesmo laboratório (BEIJAMINI et al., 2014), o que sugere que esta escala, originalmente desenvolvida para avaliar a sonolência em indivíduos privados de sono, talvez não seja sensível o suficiente para detectar diferenças de sonolência em indivíduos antes e depois de uma sesta diurna sem privação de sono prévia.

O padrão de sono noturno na semana anterior ao experimento foi avaliado por actimetria e se mostrou semelhante entre os grupos, sem diferenças significativas nos horários de dormir, acordar ou duração de sono. Quando a noite que precedeu o experimento foi analisada isoladamente, novamente não foram encontradas diferenças entre os grupos na duração de sono, horários de dormir ou acordar. Além disso, como os horários de acordar foram semelhantes também podemos supor uma pressão de sono similar em todos os grupos no momento do treino.

O desempenho ao final do treino também não diferiu significativamente entre os grupos, indicando que todos foram capazes de aprender e realizar a tarefa com níveis de proficiência comparáveis. Já foi mostrado que o efeito da

reativação direcionada da memória depende do nível de desempenho pré-sono (CREERY et al., 2015). O maior ganho é observado nos indivíduos com nível intermediário de desempenho, que não apresentam nem uma habilidade tão elevada que já não é passível de ser melhorada (efeito teto), nem com um desempenho tão baixo que sugira que nenhum engrama motor tenha sido formado (e que assim também não pode ser potencializado) (CREERY et al., 2015). Participantes com experiência em instrumentos musicais não foram selecionados para participar deste estudo e o desempenho daqueles que efetivamente realizaram o experimento se assemelhou ao descrito em outros trabalhos (WALKER 2002, NISHIDA 2002) nos quais foi detectado um efeito facilitador do sono sobre a consolidação de uma habilidade motora. Assim, parece pouco provável que os nossos achados possam ser explicados pelo efeito teto ou por deficiências de aprendizado.

Um estudo recente utilizando a tarefa SRTT relatou que apenas os homens se beneficiaram da técnica de TMR, sendo que nas mulheres não foi registrada uma melhora significativa do desempenho pós-sono (DIEKELMANN et al., 2016). Caso estes resultados possam ser extrapolados também para a tarefa FTT, é possível que a proporção de mulheres para homens no presente trabalho tenha influenciado os resultados. Apesar do número de integrantes de cada sexo ser aproximadamente o mesmo em cada grupo (entre 3 a 6 homens e entre 9 a 12 mulheres por grupo), no cômputo geral a quantidade de mulheres foi em torno do dobro da quantidade de homens. Se de fato as mulheres forem menos sensíveis aos efeitos da reativação após o aprendizado de uma habilidade motora sequencial explícita (como no caso de UMA habilidade motora sequencial implícita (DIEKELMANN et al., 2016)), por

superarem numericamente os homens, torna-se mais difícil detectar um efeito significativo no desempenho. Como o número amostral por grupo é relativamente baixo e desigual entre os sexos (aproximadamente 10 mulheres e 5 homens por grupo), não foi possível testar esta hipótese diretamente.

Outra limitação deste estudo é que o ciclo menstrual das participantes não foi levado em consideração no momento de agendar a data da coleta de dados e este é um fator que sabidamente interfere com o aprendizado e desempenho motor (GENZEL et al., 2012). Desta forma, é possível que esta variável também tenha contribuído para aumentar a variabilidade dos dados e assim dificultado a detecção de uma diferença significativa entre os grupos após a intervenção experimental. Por este motivo, é recomendado que este fator seja levado em consideração durante o delineamento de estudos futuros.

Apesar desta limitação, podemos concluir que, com base em todas as variáveis de controle testadas neste trabalho, os grupos eram homogêneos antes do intervalo de retenção, durante o qual diferentes procedimentos foram adotados.

A introdução de uma estimulação tátil durante o sono poderia levar à fragmentação ou superficialização da arquitetura da sesta. Desta forma, o desempenho dos grupos estimulados durante o sono poderia ter sido prejudicado. Para excluir esta possibilidade, comparamos a macroarquitetura da sesta entre os grupos Sesta. Não foram encontradas diferenças em nenhum dos parâmetros testados: nem na duração total de sono, tempo passado em cada uma das fases de sono ou acordado e nem mesmo no número de despertares. Isto sugere que a presença de um estímulo tátil não piorou a

qualidade ou quantidade de sono. No entanto, o número de despertares nos grupos estimulados poderia levantar dúvidas acerca da qualidade de sono destes participantes, apesar de não ser significativamente superior ao do grupo controle. Tem sido relatado que pacientes com apnéia obstrutiva do sono apresentam um prejuízo na consolidação de memórias motoras sequenciais (LANDRY et al., 2014). Nestes pacientes é comum observar fragmentação do sono noturno pela ocorrência de vários despertares ao longo da noite. Desta forma, é possível que os despertares causados pela administração de uma estimulação tátil durante a fase NREM 2 da sesta possa ter prejudicado os processos de consolidação em andamento, de forma semelhante ao observado nos paciente com apnéia. Porém, visto que não foi observada uma correlação entre o número de despertares (ou qualquer outra variável de sono) e o desempenho pós-teste, esta hipótese parece pouco provável e caso se verificasse, deveria afetar igualmente o grupo *Sham*, que efetivamente se beneficiou do sono para a estabilização do engrama motor aprendido.

Além dos possíveis vieses experimentais descritos acima, é possível especular acerca da influência de outras causas de cunho mais teórico que expliquem os nossos achados.

O presente trabalho foi o primeiro a demonstrar não só a ausência de uma melhora no desempenho motor decorrente da utilização da técnica de reativação direcionada da memória, como também uma alteração potencialmente prejudicial ao equilíbrio dinâmico natural entre eventos oscilatórios específicos ao sono, particularmente as oscilações lentas e os fusos. Ao contrário de estudos anteriores, o nosso foi também o primeiro a utilizar um estímulo tátil como pista sensorial, estímulo esse que é um

componente indissociável da execução da tarefa motora à qual os participantes foram submetidos e não um simples elemento pertencente ao contexto no qual se deu o aprendizado (como um odor).

A eficácia da técnica de TMR parece ser fortemente influenciada pelo estímulo sensorial utilizado: enquanto que um estudo relatou aumento do conhecimento explícito de uma sequência motora após estimulação auditiva durante o sono (COUSINS et al., 2014), outro relatou ausência deste mesmo benefício quando a estimulação era olfativa (DIEKELMANN et al., 2016).

Outro fator que pode influenciar se a TMR irá funcionar ou não é a tarefa utilizada. Quando a TMR foi aplicada após a execução de versões modificadas da tarefa SRTT (na qual uma sequência motora é aprendida implicitamente), foi observada uma melhora do desempenho (ANTONY et al., 2012; SCHÖNAUER et al., 2014; COUSINS et al., 2014), porém os mesmos efeitos não foram alcançados após a execução da tarefa FTT (RASCH et al., 2007), na qual a sequência motora é aprendida explicitamente. Contudo, outro estudo se mostrou hábil em produzir melhoras no ganho off-line em uma tarefa muito semelhante ao FTT (a tarefa de *motor sequence learning*, MSL) (LAVENTURE et al., 2016). Desta forma, parece que a técnica de TMR apresenta uma sensibilidade específica para diferentes tarefas, mesmo que estas avaliem o mesmo tipo de habilidade motora (como é o caso das tarefas FTT e MSL), por motivos até ao momento indeterminados. É possível portanto que os resultados encontrados no presente trabalho se assemelhem aos reportados por Rasch e colaboradores (2007) devido à utilização da tarefa padrão para avaliação de habilidades motoras sequenciais aprendidas explicitamente, o FTT, em vez do MSL.

A fase de sono na qual a estimulação é realizada também pode afetar a eficácia da TMR: enquanto que reativação olfatória durante SWS ou REM não potencializou o efeito do sono sobre a consolidação de uma habilidade motora sequencial, o mesmo estímulo aplicado durante o estágio NREM 2 melhorou o desempenho dessa mesma habilidade (LAVENTURE et al., 2016). Uma vez que a estimulação tátil utilizada no presente trabalho também foi realizada durante o estágio NREM 2, parece pouco provável que os resultados negativos aqui descritos possam ser explicados por este fator, porém, devido à diferente natureza dos estímulos (olfativos no trabalho de Laventure e colaboradores (2016) vs táteis no presente estudo), ainda não é possível descartar esta hipótese.

Por último, o paradigma experimental (sesta vs sono noturno) também pode influenciar a eficácia da TMR (SCHOUTEN et al., 2016). Apesar de ambos terem se mostrado capazes de produzir resultados favoráveis ao desempenho motor com estímulos auditivos (sesta diurna: (ANTONY et al., 2012); sono noturno: (SCHÖNAUER et al., 2014)), ainda não é possível determinar se a reativação direcionada da memória com estimulação tátil é igualmente eficaz quando aplicada durante uma sesta diurna ou durante o sono noturno, pois este é o primeiro trabalho que tentou esta abordagem.

Como este trabalho é, até onde se sabe, o único até ao momento a utilizar um estímulo tátil com o intuito de desencadear reativações neuronais durante o sono, não foi possível determinar se os nossos resultados são devidos à natureza da pista sensorial, à tarefa escolhida para avaliar a habilidade motora dos participantes, à fase de sono durante a qual a

estimulação ocorreu, ao paradigma experimental utilizado (sesta, ao invés de sono noturno) ou ainda a uma combinação destes fatores.

O que os dados aqui apresentados parecem sugerir é que, independentemente da causa, o efeito que mais provavelmente explica a ausência de uma melhora no desempenho motor após a estimulação é a alteração observada na densidade de oscilações lentas e fusos. Quando apenas as épocas durante as quais a estimulação foi administrada foram analisadas separadamente, foi detectado um aumento da densidade de oscilações lentas e uma diminuição na densidade de fusos nos grupos estimulados, quando comparados ao grupo controle. As análises de correlação também oferecem suporte a esta hipótese: a única correlação significativa detectada mostrou uma associação positiva entre a densidade de fusos em NREM 2 no grupo *Sham* e o ganho off-line. Esta correlação, no entanto, foi abolida nos grupos estimulados.

A hipótese da consolidação ativa de sistemas postula que um acoplamento finamente regulado entre as oscilações lentas e os fusos do sono deve estar a serviço da redistribuição e estabilização da memória (BORN et al., 2006; RASCH; BORN, 2013). Assim, intervenções que perturbem este sistema altamente sincronizado podem impactar os processos que dele dependem, como sugere o trabalho de Feld e colaboradores (2013). Pouco antes de dormir, os participantes daquele estudo realizaram três tarefas (uma para avaliar memória declarativa, outra para avaliar memória emocional e por último uma para avaliar memória procedural) e logo em seguida foram submetidos à administração oral de Tiagabina (um inibidor da recaptação de GABA), ou em outra sessão, a um placebo. Contrariamente ao esperado, não foram

observadas alterações no desempenho nem na tarefa que avaliava memórias declarativas nem na tarefa que avaliava memórias emocionais e a habilidade motora não só não melhorou quanto piorou quando Tiagabina havia sido administrada, em comparação às noites com administração de Placebo (FELD; WILHELM; et al., 2013). Ao analisar os dados de sono percebeu-se, de forma semelhante ao presente trabalho, um aumento da densidade de oscilações lentas e simultaneamente, uma diminuição na densidade de fusos de sono (FELD; WILHELM; et al., 2013). Este efeito foi ainda mais pronunciado para os fusos que ocorrem em sincronia com o *up-state* (fase de despolarização neuronal) das oscilações lentas, o que foi proposto pelos autores como uma possível explicação para os seus achados (FELD; WILHELM; et al., 2013).

A este respeito, pode-se especular ainda que os resultados aqui descritos vão ao encontro da ideia de que as mesmas redes neuronais recrutadas durante o aprendizado serão responsáveis por armazenar esse mesmo traço mnemônico e que a segregação temporal destes dois processos (aquisição e consolidação) serviria para prevenir a interferência de um sobre o outro (BORN et al., 2006; BENDOR; WILSON, 2012). Assim, assumindo que as redes neuronais recrutadas durante o treino do FTT estariam sendo alvo de processos de consolidação durante a sesta pós-treino é de se supor que um estímulo sensorial altamente congruente à tarefa realizada possa perturbar o curso normal destes processos, como evidenciado pelas alterações observadas na densidade de oscilações lentas e fusos. Um trabalho recente mostrou que reativação direcionada de uma memória procedural durante o estágio de SWS de sono noturno induzida por um estímulo auditivo resultou em melhora do desempenho na tarefa SRTT (COUSINS et al., 2016).

Paralelamente foi registrado um aumento da atividade e conectividade entre o caudado e o hipocampo associado ao tempo passado em SWS e um aumento da atividade do córtex pré-motor, área motora suplementar e cerebelo associado ao tempo passado em sono REM (COUSINS et al., 2016). Estes dados dão suporte à hipótese da contribuição diferencial de cada estágio de sono (hipótese sequencial), com o SWS facilitando a consolidação em regiões subcorticais chave para o aprendizado sequencial (estriado e hipocampo) e com o sono REM facilitando a consolidação em redes corticais e cerebelares específicas para o aprendizado motor (COUSINS et al., 2016). Com base neste estudo podemos especular que, nas condições experimentais utilizadas no presente trabalho (estimulação tátil em NREM 2 de uma sesta e tarefa de habilidade motora FTT), a atividade e/ou conectividade entre as regiões que supostamente subsidiam a consolidação do aprendizado motor sequencial (estriado, hipocampo, córtex motor e cerebelo) pode ter sido prejudicada, como sugerem as alterações eletroencefalográficas aqui observadas. Infelizmente, a ausência de dados de ressonância magnética funcional não permitiu testar esta hipótese.

Em relação ao efeito da sequência específica com a qual o sujeito foi estimulado parece existir uma resposta diferencial, tanto comportamental quanto eletrofisiológica, embora os dados atualmente disponíveis apresentam uma variabilidade demasiado grande para afirmar que de fato este é o caso. No que diz respeito ao ganho off-line, é possível perceber um prejuízo progressivo à medida que o estímulo se assemelha mais da experiência vivenciada durante o treino, embora este não seja significativo. Esta observação se alinha bem com a proposta de que quanto mais semelhante à tarefa for o estímulo, maior a

probabilidade de reativar as mesmas redes que estariam responsáveis por armazenar esse engrama. A ativação apenas parcial dessas redes, como no caso da Seq. Não Treinada, causaria prejuízos menos pronunciados. A nível eletrofisiológico foram também detectadas diferenças regionais na densidade de oscilações lentas e fusos durante a estimulação, com o hemisfério contralateral à mão treinada sendo mais afetado no grupo Seq. Treinada e o hemisfério ipsilateral no grupo Seq. Não Treinada. Apesar da baixa resolução espacial do EEG, é possível que esta diferença seja relevante e que ajude a explicar os dados comportamentais.

Quanto ao efeito da estimulação nos grupos acordados, mais uma vez ficou evidente que o tipo de pista sensorial utilizado é crucial para o resultado da reativação direcionada da memória. Estudos anteriores reportaram um efeito deletério da reativação durante a vigília, tanto com um odor (RASCH et al., 2007; DIEKELMANN et al., 2011) quanto com um som (SCHÖNAUER et al., 2014) (porém ver OUDIETTE et al., 2013). Caso significativo, contudo, o efeito da estimulação tátil durante a vigília teria sido benéfico e não prejudicial, em linha com os estudos que mostram que a estimulação elétrica somatossensorial tem sido usada com sucesso para fortalecimento da consolidação de habilidades motoras (VELDMAN et al., 2016).

Em resumo, é possível afirmar que, apesar de não comprometer significativamente o ganho off-line, a estimulação tátil durante o estágio NREM 2 da sesta leva a alterações potencialmente deletérias da proporção de oscilações lentas e fusos do sono, ao passo que durante a vigília a tendência é de que o desempenho fosse beneficiado. É possível que a sequência na qual a estimulação é aplicada também influencie os resultados, porém seria prudente

realizar mais experimentos antes de poder efetivamente concluir qual é exatamente o efeito da TMR sobre o desempenho motor, nas condições aqui testadas.

Os achados do presente estudo expuseram uma potencial limitação da técnica de reativação direcionada da memória e ressaltam a importância de explorar variantes metodológicas antes de afirmar que uma dada ferramenta é eficaz e segura para potencialização da memória. Quando se pensa em utilizar a TMR para melhorar a qualidade de vida de pacientes sofrendo de distúrbios que comprometem a memória, é possível que os benefícios para a qualidade de vida desses pacientes superem os possíveis riscos a que estarão expostos. Entretanto, quando se pretende utilizar TMR para amplificar as faculdades cognitivas de indivíduos saudáveis, sem qualquer déficit, vale a pena refletir se essa mesma relação continua válida.

A procura por meios de potencializar a memória é uma área de investigação que está em rápida expansão, mas que ainda carece de estudos que avaliem os efeitos em longo prazo deste e de outros tipos de manipulações.

6. CONCLUSÃO

Conclui-se que, em adultos jovens saudáveis:

1. habilidades motoras sequenciais como a avaliada pelo *finger tapping task* não se beneficiam da utilização de técnica de reativação direcionada da memória, realizada por meio de uma estimulação tátil mecânica, durante a fase NREM 2 de uma sesta diurna pós-treino;
2. a estimulação tátil mecânica não alterou a macroarquitetura da sesta, mas modificou a sua microarquitetura ao provocar um aumento da densidade de oscilações lentas em F3 e C4 e uma diminuição da densidade de fusos do sono em F3;
3. o ganho off-line não se correlacionou com nenhuma variável da macro ou microarquitetura da sesta nos grupos estimulados (Sequência Treinada e Sequência Não Treinada) e no grupo *Sham* correlacionou-se apenas com a densidade de fusos em C4 durante o sono NREM 2 (épocas 'on').

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACKERMANN, S.; RASCH, B. Differential effects of non-REM and REM sleep on memory consolidation? **Current Neurology and Neuroscience Reports**, 2014.
- AGREN, T. Human reconsolidation: A reactivation and update. **Brain research bulletin**, v. 105, p. 70–82, 2014.
- AKERSTEDT, T.; FOLKARD, S. The three-process model of alertness and its extension to performance, sleep latency, and sleep length. **Chronobiology international**, v. 14, n. 2, p. 115–23, 1997.
- AKERSTEDT, T.; GILLBERG, M. Subjective and objective sleepiness in the active individual. **The International journal of neuroscience**, v. 52, n. 1-2, p. 29–37, 1990. Informa UK Ltd UK.
- ALBOUY, G.; FOGEL, S.; KING, B. R.; et al. Maintaining vs. enhancing motor sequence memories: Respective roles of striatal and hippocampal systems. **NeuroImage**, v. 108, p. 423–434, 2015.
- ALBOUY, G.; FOGEL, S.; POTTIEZ, H.; et al. Daytime sleep enhances consolidation of the spatial but not motoric representation of motor sequence memory. **PloS one**, v. 8, n. 1, p. e52805, 2013.
- ALBOUY, G.; KING, B. R.; MAQUET, P.; DOYON, J. Hippocampus and striatum: dynamics and interaction during acquisition and sleep-related motor sequence memory consolidation. **Hippocampus**, v. 23, n. 11, p. 985–1004, 2013.
- ALBOUY, G.; STERPENICH, V.; VANDEWALLE, G.; et al. Interaction between Hippocampal and Striatal Systems Predicts Subsequent Consolidation of Motor Sequence Memory. (E. Robertson, Ed.) **PLoS ONE**, v. 8, n. 3, p. e59490, 2013.
- ANTONENKO, D.; DIEKELMANN, S.; OLSEN, C.; BORN, J.; MÖLLE, M. Napping to renew learning capacity: enhanced encoding after stimulation of sleep slow oscillations. **The European journal of neuroscience**, , n. February 2012, p. 1–10, 2013.
- ANTONY, J. W.; GOBEL, E. W.; O'HARE, J. K.; REBER, P. J.; PALLER, K. A. Cued memory reactivation during sleep influences skill learning. **Nature neuroscience**, v. 15, n. 8, p. 1114–1116, 2012. Nature Publishing Group.
- AOKI, T.; FURUYA, S.; KINOSHITA, H. Finger-tapping ability in male and female pianists and nonmusician controls. **Motor control**, v. 9, n. 1, p. 23–39, 2005.
- ASERINSKY, E.; KLEITMAN, N. Two types of ocular motility occurring in sleep. **Journal of applied physiology**, v. 8, n. 1, p. 1–10, 1955.
- BEIJAMINI, F.; PEREIRA, S. I. R.; CINI, F. A.; LOUZADA, F. M. After being challenged by a video game problem, sleep increases the chance to solve it. (G. F. Gilestro, Ed.) **PLoS ONE**, v. 9, n. 1, p. e84342, 2014. Public Library of Science.
- BELLESI, M.; RIEDNER, B. A.; GARCIA-MOLINA, G. N.; CIRELLI, C.;

TONONI, G. Enhancement of sleep slow waves: underlying mechanisms and practical consequences. **Frontiers in Systems Neuroscience**, v. 8, p. 208, 2014.

BENDOR, D.; WILSON, M. A. Biasing the content of hippocampal replay during sleep. **Nature Neuroscience**, v. 15, n. 10, p. 1439–1444, 2012. Nature Publishing Group, a division of Macmillan Publishers Limited. All Rights Reserved.

BORBÉLY, A. A. A two process model of sleep regulation. **Human neurobiology**, v. 1, n. 3, p. 195–204, 1982.

BORBÉLY, A. A. Refining sleep homeostasis in the two-process model. **Journal of sleep research**, v. 18, n. 1, p. 1–2, 2009.

BORN, J.; RASCH, B.; GAIS, S. Sleep to remember. **The Neuroscientist: a review journal bringing neurobiology, neurology and psychiatry**, v. 12, n. 5, p. 410–424, 2006.

BORN, J.; WILHELM, I. System consolidation of memory during sleep. **Psychological research**, v. 76, n. 2, p. 192–203, 2012.

BURNE, R. V.; MOORE, L. S. Microatoll microbialites of Lake Clifton, Western Australia: Morphological analogues of Cryptozo??n proliferum Hall, the first formally-named stromatolite. **Facies**, v. 29, n. 1, p. 149–168, 1993.

CAI, D. J.; RICKARD, T. C. Reconsidering the role of sleep for motor memory. **Behavioral neuroscience**, v. 123, n. 6, p. 1153–7, 2009.

CAMPBELL, S. S.; TOBLER, I. Animal sleep: a review of sleep duration across phylogeny. **Neuroscience and biobehavioral reviews**, v. 8, n. 3, p. 269–300, 1984.

CIRELLI, C.; TONONI, G. Is sleep essential? **PLoS biology**, v. 6, n. 8, p. e216, 2008. Public Library of Science.

COUSINS, J. N.; EL-DEREDY, W.; PARKES, L. M.; HENNIES, N.; LEWIS, P. A. Cued memory reactivation during slow-wave sleep promotes explicit knowledge of a motor sequence. **Journal of Neuroscience**, v. 34, n. 48, p. 15870–15876, 2014.

COUSINS, J. N.; EL-DEREDY, W.; PARKES, L. M.; HENNIES, N.; LEWIS, P. A. Cued Reactivation of Motor Learning during Sleep Leads to Overnight Changes in Functional Brain Activity and Connectivity. **PLoS biology**, v. 14, n. 5, p. e1002451, 2016. Public Library of Science.

CREERY, J. D.; OUDIETTE, D.; ANTONY, J. W.; PALLER, K. A. Targeted Memory Reactivation during Sleep Depends on Prior Learning. **Sleep**, v. 38, n. 5, p. 755–63, 2015.

DANG-VU, T. T.; BONJEAN, M.; SCHABUS, M.; BOLY, M.; DARSAUD, A. Interplay between spontaneous and induced brain activity during human non-rapid eye movement sleep. , 2011.

DAVACHI, L. Item, context and relational episodic encoding in humans. **Current opinion in neurobiology**, v. 16, n. 6, p. 693–700, 2006.

DEMENT, W.; KLEITMAN, N. Cyclic variations in EEG during sleep and their

relation to eye movements, body motility, and dreaming. **Electroencephalography and clinical neurophysiology**, v. 9, n. 4, p. 673–90, 1957.

DHAND, R.; SOHAL, H. Good sleep, bad sleep! The role of daytime naps in healthy adults. **Current opinion in pulmonary medicine**, v. 12, n. 6, p. 379–82, 2006.

DIEKELMANN, S. Sleep for cognitive enhancement. **Frontiers in systems neuroscience**, v. 8, p. 46, 2014.

DIEKELMANN, S.; BIGGEL, S.; RASCH, B.; BORN, J. Offline consolidation of memory varies with time in slow wave sleep and can be accelerated by cuing memory reactivations. **Neurobiology of learning and memory**, v. 98, n. 2, p. 103–111, 2012. Elsevier Inc.

DIEKELMANN, S.; BORN, J.; RASCH, B. Increasing Explicit Sequence Knowledge by Odor Cueing during Sleep in Men but not Women. **Frontiers in Behavioral Neuroscience**, v. 10, 2016. Frontiers.

DIEKELMANN, S.; BÜCHEL, C.; BORN, J.; RASCH, B. Labile or stable: opposing consequences for memory when reactivated during waking and sleep. **Nature neuroscience**, v. 14, n. 3, p. 381–386, 2011. Nature Publishing Group.

DINGES, D. F.; ORNE, M. T.; WHITEHOUSE, W. G.; ORNE, E. C. Temporal placement of a nap for alertness: contributions of circadian phase and prior wakefulness. **Sleep**, v. 10, n. 4, p. 313–29, 1987.

DONGEN, E. V. VAN; TAKASHIMA, A.; BARTH, M.; et al. Memory stabilization with targeted reactivation during human slow-wave sleep. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, n. 26, p. 10575–10580, 2012.

DOYON, J.; BELLEC, P.; AMSEL, R.; et al. Contributions of the basal ganglia and functionally related brain structures to motor learning. **Behavioural brain research**, v. 199, n. 1, p. 61–75, 2009.

DOYON, J.; BENALI, H. Reorganization and plasticity in the adult brain during learning of motor skills. **Current Opinion in Neurobiology**, v. 15, n. 2, p. 161–167, 2005.

DOYON, J.; PENHUNE, V.; UNGERLEIDER, L. G. Distinct contribution of the cortico-striatal and cortico-cerebellar systems to motor skill learning. **Neuropsychologia**, v. 41, n. 3, p. 252–62, 2003.

DUDMAN, J. T.; KRAKAUER, J. W. The basal ganglia: from motor commands to the control of vigor. **Current Opinion in Neurobiology**, 2016.

EGGERT, T.; DORN, H.; SAUTER, C.; et al. No effects of slow oscillatory transcranial direct current stimulation (tDCS) on sleep-dependent memory consolidation in healthy elderly subjects. **Brain stimulation**, v. 6, n. 6, p. 938–45, 2013.

FELD, G. B.; DIEKELMANN, S. Sleep smart-optimizing sleep for declarative learning and memory. **Frontiers in psychology**, v. 6, n. May, p. 622, 2015.

FELD, G. B.; LANGE, T.; GAIS, S.; BORN, J. Sleep-dependent declarative memory consolidation--unaffected after blocking NMDA or AMPA receptors but

enhanced by NMDA coagonist D-cycloserine. **Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology**, v. 38, n. 13, p. 2688–97, 2013. Nature Publishing Group.

FELD, G. B.; WILHELM, I.; MA, Y.; et al. Slow wave sleep induced by GABA agonist tiagabine fails to benefit memory consolidation. **Sleep**, v. 36, n. 9, p. 1317–26, 2013.

FICCA, G.; AXELSSON, J.; MOLLICONE, D. J.; MUTO, V.; VITIELLO, M. V. Naps, cognition and performance. **Sleep Medicine Reviews**, v. 14, n. 4, p. 249–258, 2010. Elsevier Ltd.

FISCHER, S.; HALLSCHMID, M.; ELSNER, A. L.; BORN, J. Sleep forms memory for finger skills. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 99, n. 18, p. 11987–91, 2002.

FOSTER, R. G.; WULFF, K. The rhythm of rest and excess. **Nature reviews. Neuroscience**, v. 6, n. 5, p. 407–14, 2005.

FUENTEMILLA, L.; MIRÓ, J.; RIPOLLÉS, P.; et al. Hippocampus-dependent strengthening of targeted memories via reactivation during sleep in humans. **Current biology : CB**, v. 23, n. 18, p. 1769–75, 2013.

GAIS, S.; MÖLLE, M.; HELMS, K.; et al. Learning-dependent increases in sleep spindle density. **The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience**, v. 22, n. 15, p. 6830–4, 2002.

GENNARO, L. DE; FERRARA, M. Sleep spindles: an overview. **Sleep Medicine Reviews**, v. 7, n. 5, p. 423–440, 2003.

GENZEL, L.; KIEFER, T.; RENNER, L.; et al. Sex and modulatory menstrual cycle effects on sleep related memory consolidation. **Psychoneuroendocrinology**, v. 37, n. 7, p. 987–98, 2012.

GENZEL, L.; KROES, M. C. W.; DRESLER, M.; BATTAGLIA, F. P. Light sleep versus slow wave sleep in memory consolidation: a question of global versus local processes? **Trends in neurosciences**, v. 37, n. 1, p. 10–9, 2014. Elsevier Ltd.

GULATI, T.; RAMANATHAN, D. S.; WONG, C. C.; GANGULY, K. Reactivation of emergent task-related ensembles during slow-wave sleep after neuroprosthetic learning. **Nature neuroscience**, v. 17, n. 8, p. 1107–13, 2014.

HAUNER, K. K.; HOWARD, J. D.; ZELANO, C.; GOTTFRIED, J. A. Stimulus-specific enhancement of fear extinction during slow-wave sleep. **Nature neuroscience**, v. 16, n. 11, p. 1553–5, 2013. Nature Publishing Group.

HAYASHI, M.; ITO, S.; HORI, T. The effects of a 20-min nap at noon on sleepiness, performance and EEG activity. **International journal of psychophysiology : official journal of the International Organization of Psychophysiology**, v. 32, n. 2, p. 173–80, 1999.

HAYASHI, M.; WATANABE, M.; HORI, T. The effects of a 20 min nap in the mid-afternoon on mood, performance and EEG activity. **Clinical neurophysiology : official journal of the International Federation of Clinical Neurophysiology**, v. 110, n. 2, p. 272–9, 1999.

HEIB, D. P. J.; HOEDLMOSER, K.; ANDERER, P.; et al. Slow oscillation amplitudes and up-state lengths relate to memory improvement. **PloS one**, v. 8, n. 12, p. e82049, 2013.

HOBSON, J. A. REM sleep and dreaming: towards a theory of protoconsciousness. **Nature reviews. Neuroscience**, v. 10, n. 11, p. 803–13, 2009. Nature Publishing Group.

HOLZ, J.; PIOSCZYK, H.; FEIGE, B.; et al. EEG sigma and slow-wave activity during NREM sleep correlate with overnight declarative and procedural memory consolidation. **Journal of sleep research**, v. 21, n. 6, p. 612–9, 2012.

HU, X.; ANTONY, J. W.; CREERY, J. D.; et al. Unlearning implicit social biases during sleep. **Science**, v. 348, n. 6238, p. 1013–1015, 2015.

HYSING, M.; PALLESEN, S.; STORMARK, K. M.; et al. Sleep and use of electronic devices in adolescence: results from a large population-based study. **BMJ Open**, v. 5, n. 1, p. e006748–e006748, 2015.

IBER, C.; ANCOLI-ISRAEL, S.; CHESSON, A. L.; QUAN, S. F. **The AASM manual for the scoring of sleep and associated events: rules, terminology and technical specifications**. 1st ed. Westchester, 2007.

JI, D.; WILSON, M. A. Coordinated memory replay in the visual cortex and hippocampus during sleep. **Nature neuroscience**, v. 10, n. 1, p. 100–107, 2007.

JOHNS, M. W. A new method for measuring daytime sleepiness: the Epworth sleepiness scale. **Sleep**, v. 14, n. 6, p. 540–545, 1991.

KAESTNER, E. J.; WIXTED, J. T.; MEDNICK, S. C. Pharmacologically increasing sleep spindles enhances recognition for negative and high-arousal memories. **Journal of cognitive neuroscience**, v. 25, n. 10, p. 1597–610, 2013.

KILLGORE, W. D. S. Effects of sleep deprivation on cognition. **Progress in brain research**, v. 185, p. 105–29, 2010.

KOLLIGIAN, J.; STERNBERG, R. J. Perceived fraudulence in young adults: is there an “imposter syndrome”? **Journal of personality assessment**, v. 56, n. 2, p. 308–26, 1991.

KORMAN, M.; DOYON, J.; DOLJANSKY, J.; et al. Daytime sleep condenses the time course of motor memory consolidation. **Nature neuroscience**, v. 10, n. 9, p. 1206–13, 2007.

KRAKAUER, J. W.; MAZZONI, P. Human sensorimotor learning: adaptation, skill, and beyond. **Current opinion in neurobiology**, v. 21, n. 4, p. 636–44, 2011.

LANDMANN, N.; KUHN, M.; PIOSCZYK, H.; et al. The reorganisation of memory during sleep. **Sleep medicine reviews**, p. 1–11, 2014. Elsevier Ltd.

LANDRY, S.; ANDERSON, C.; ANDREWARTHA, P.; SASSE, A.; CONDUIT, R. The impact of obstructive sleep apnea on motor skill acquisition and consolidation. **Journal of clinical sleep medicine: JCSM: official publication of the American Academy of Sleep Medicine**, v. 10, n. 5, p.

491–6, 2014.

LAVENTURE, S.; FOGEL, S.; LUNGU, O.; et al. NREM2 and Sleep Spindles Are Instrumental to the Consolidation of Motor Sequence Memories. (F. P. Battaglia, Ed.) **PLOS Biology**, v. 14, n. 3, p. e1002429, 2016.

LAZARTE, L. Ecologia cognitiva na sociedade da informação. **Ciência da Informação**, v. 29, n. 2, p. 43–51, 2000. Instituto Brasileiro de Informação em
Ciência e Tecnologia - IBICT.

LECEA, L. DE. Hypocretins and the neurobiology of sleep-wake mechanisms. **Progress in brain research**, v. 198, p. 15–24, 2012.

LECEA, L. DE; KILDUFF, T. S.; PEYRON, C.; et al. The hypocretins: hypothalamus-specific peptides with neuroexcitatory activity. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 95, n. 1, p. 322–7, 1998.

LIMA, M. M. S. Sleep disturbances in Parkinson's disease: The contribution of dopamine in REM sleep regulation. **Sleep Medicine Reviews**, v. 17, n. 5, p. 367–375, 2013.

LOVATO, N.; LACK, L. The effects of napping on cognitive functioning. **Progress in brain research**, v. 185, p. 155–66, 2010.

LÜTHI, A. Sleep Spindles: Where They Come From, What They Do. **The Neuroscientist: a review journal bringing neurobiology, neurology and psychiatry**, v. 20, n. 3, p. 243–256, 2013.

MAQUET, P.; LAUREYS, S.; PEIGNEUX, P.; et al. Experience-dependent changes in cerebral activation during human REM sleep. **Nature neuroscience**, v. 3, n. 8, p. 831–6, 2000.

MARSHALL, L.; HELGADÓTTIR, H.; MÖLLE, M.; BORN, J. Boosting slow oscillations during sleep potentiates memory. **Nature**, v. 444, n. 7119, p. 610–3, 2006.

MCDEVITT, E. A.; ALAYNICK, W. A.; MEDNICK, S. C. The effect of nap frequency on daytime sleep architecture. **Physiology & Behavior**, v. 107, n. 1, p. 40–44, 2012. Elsevier B.V.

MCGAUGH, J. L. Memory--a century of consolidation. **Science (New York, N.Y.)**, v. 287, n. 5451, p. 248–51, 2000.

MEDNICK, S. C.; MCDEVITT, E. A.; WALSH, J. K.; et al. The critical role of sleep spindles in hippocampal-dependent memory: a pharmacology study. **The Journal of neuroscience**, v. 33, n. 10, p. 4494–504, 2013.

MEDNICK, S.; NAKAYAMA, K.; STICKGOLD, R. Sleep-dependent learning: a nap is as good as a night. **Nature neuroscience**, v. 6, n. 7, p. 697–698, 2003.

MENDOZA, J.; CHALLET, E. Brain clocks: from the suprachiasmatic nuclei to a cerebral network. **The Neuroscientist: a review journal bringing neurobiology, neurology and psychiatry**, v. 15, n. 5, p. 477–88, 2009.

MILNER, B. The medial temporal-lobe amnesic syndrome. **The Psychiatric clinics of North America**, v. 28, n. 3, p. 599–611, 609, 2005.

MILNER, C. E.; COTE, K. A. Benefits of napping in healthy adults: impact of nap length, time of day, age, and experience with napping. **Journal of sleep research**, v. 18, n. 2, p. 272–81, 2009.

MILNER, C. E.; FOGEL, S. M.; COTE, K. A. Habitual napping moderates motor performance improvements following a short daytime nap. **Biological psychology**, v. 73, n. 2, p. 141–56, 2006.

MÖLLE, M.; MARSHALL, L.; GAIS, S.; BORN, J. Grouping of spindle activity during slow oscillations in human non-rapid eye movement sleep. **The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience**, v. 22, n. 24, p. 10941–10947, 2002.

NETTERSHEIM, A.; HALLSCHMID, M.; BORN, J.; DIEKELMANN, S. The Role of Sleep in Motor Sequence Consolidation: Stabilization Rather Than Enhancement. **Journal of Neuroscience**, v. 35, n. 17, p. 6696–6702, 2015.

NGO, H.-V. V.; CLAUSSEN, J. C.; BORN, J.; MÖLLE, M. Induction of slow oscillations by rhythmic acoustic stimulation. **Journal of sleep research**, v. 22, n. 1, p. 22–31, 2013.

NGO, H.-V. V.; MARTINETZ, T.; BORN, J.; MÖLLE, M. Auditory Closed-Loop Stimulation of the Sleep Slow Oscillation Enhances Memory. **Neuron**, 2013.

NGO, H.-V. V.; MIEDEMA, A.; FAUDE, I.; et al. Driving Sleep Slow Oscillations by Auditory Closed-Loop Stimulation--A Self-Limiting Process. **Journal of Neuroscience**, v. 35, n. 17, p. 6630–6638, 2015.

NIKNAZAR, M.; KRISHNAN, G. P.; BAZHENOV, M.; MEDNICK, S. C. Coupling of Thalamocortical Sleep Oscillations Are Important for Memory Consolidation in Humans. **PloS one**, v. 10, n. 12, p. e0144720, 2015. Public Library of Science.

NISHIDA, M.; WALKER, M. P. Daytime naps, motor memory consolidation and regionally specific sleep spindles. (C. Miall, Ed.) **PloS one**, v. 2, n. 4, p. e341, 2007. Public Library of Science.

OOSTENVELD, R.; FRIES, P.; MARIS, E.; SCHOFFELEN, J.-M. FieldTrip: Open source software for advanced analysis of MEG, EEG, and invasive electrophysiological data. **Computational intelligence and neuroscience**, v. 2011, p. 156869, 2011.

ODIETTE, D.; ANTONY, J. W.; CREERY, J. D.; PALLER, K. A. The Role of Memory Reactivation during Wakefulness and Sleep in Determining Which Memories Endure. **Journal of Neuroscience**, v. 33, n. 15, p. 6672–6678, 2013.

ODIETTE, D.; PALLER, K. A. Upgrading the sleeping brain with targeted memory reactivation. **Trends in Cognitive Sciences**, v. 17, n. 3, p. 142–9, 2013. Elsevier Ltd.

PAN, S. C.; RICKARD, T. C. Sleep and Motor Learning: Is There Room for Consolidation? **Psychological Bulletin**, v. 141, n. 4, p. 812–834, 2015.

PEIGNEUX, P.; LAUREYS, S.; FUCHS, S.; et al. Are spatial memories strengthened in the human hippocampus during slow wave sleep? **Neuron**, v. 44, n. 3, p. 535–45, 2004.

PENHUNE, V. B.; STEELE, C. J. Parallel contributions of cerebellar, striatal and M1 mechanisms to motor sequence learning. **Behavioural brain research**, v. 226, n. 2, p. 579–91, 2012.

PETERS, K. R.; SMITH, V.; SMITH, C. T. Changes in sleep architecture following motor learning depend on initial skill level. **Journal of Cognitive Neuroscience**, v. 19, n. 5, p. 817–829, 2007.

PILCHER, J. J.; MICHALOWSKI, K. R.; CARRIGAN, R. D. The prevalence of daytime napping and its relationship to nighttime sleep. **Behavioral medicine (Washington, D.C.)**, v. 27, n. 2, p. 71–6, 2001.

RAMANATHAN, D. S.; GULATI, T.; GANGULY, K. Sleep-Dependent Reactivation of Ensembles in Motor Cortex Promotes Skill Consolidation. **PLoS biology**, v. 13, n. 9, p. e1002263, 2015.

RASCH, B.; BORN, J. About Sleep's Role in Memory. **Physiological Reviews**, v. 93, n. 2, p. 681–766, 2013.

RASCH, B.; BORN, J. In search of a role of REM sleep in memory formation. **Neurobiology of learning and memory**, v. 122, p. 1–3, 2015.

RASCH, B.; BÜCHEL, C.; GAIS, S.; BORN, J. Odor cues during slow-wave sleep prompt declarative memory consolidation. **Science (New York, N.Y.)**, v. 315, n. 5817, p. 1426–9, 2007.

RASCH, B.; POMMER, J.; DIEKELMANN, S.; BORN, J. Pharmacological REM sleep suppression paradoxically improves rather than impairs skill memory. **Nature Neuroscience**, v. 12, n. 4, p. 396–397, 2009.

RIAL, R. V.; NICOLAU, M. C.; GAMUNDÍ, A.; et al. The trivial function of sleep. **Sleep medicine reviews**, v. 11, n. 4, p. 311–25, 2007.

RIBEIRO, S.; GERVASONI, D.; SOARES, E. S.; et al. Long-lasting novelty-induced neuronal reverberation during slow-wave sleep in multiple forebrain areas. **PLoS biology**, v. 2, n. 1, p. E24, 2004.

RIHM, J. S.; DIEKELMANN, S.; BORN, J.; RASCH, B. Reactivating memories during sleep by odors: odor specificity and associated changes in sleep oscillations. **Journal of cognitive neuroscience**, v. 26, n. 8, p. 1806–1818, 2014.

RITTER, S. M.; STRICK, M.; BOS, M. W.; BAAREN, R. B. VAN; DIJKSTERHUIS, A. Good morning creativity: task reactivation during sleep enhances beneficial effect of sleep on creative performance. **Journal of sleep research**, v. 21, n. 6, p. 643–7, 2012.

RUDOY, J. D.; VOSS, J. L.; WESTERBERG, C. E.; PALLER, K. A. Strengthening individual memories by reactivating them during sleep. **Science (New York, N.Y.)**, v. 326, n. 5956, p. 1079, 2009.

SADEH, A.; ACEBO, C. The role of actigraphy in sleep medicine. **Sleep Medicine Reviews**, v. 6, n. 2, p. 113–124, 2002.

SAHLEM, G. L.; BADRAN, B. W.; HALFORD, J. J.; et al. Oscillating Square Wave Transcranial Direct Current Stimulation (tDCS) Delivered During Slow Wave Sleep Does Not Improve Declarative Memory More Than Sham: A

Randomized Sham Controlled Crossover Study. **Brain Stimulation**, v. 8, n. 3, p. 528–534, 2015.

SCHÖNAUER, M.; GEISLER, T.; GAIS, S. Strengthening procedural memories by reactivation in sleep. **Journal of cognitive neuroscience**, v. 26, n. 1, p. 143–53, 2014.

SCHOUTEN, D. I.; PEREIRA, S. I. R.; TOPS, M.; LOUZADA, F. M. State of the art on targeted memory reactivation: sleep your way to enhanced cognition. **Sleep Medicine Reviews**, 2016.

SCHREINER, T.; RASCH, B. Boosting Vocabulary Learning by Verbal Cueing During Sleep. **Cerebral cortex (New York, N.Y. : 1991)**, v. 25, n. 11, p. 4169–79, 2015.

SQUIRE, L. R. Memory systems of the brain: a brief history and current perspective. **Neurobiology of learning and memory**, v. 82, n. 3, p. 171–7, 2004.

SQUIRE, L. R.; DEDE, A. J. O. Conscious and Unconscious Memory Systems. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, v. 7, n. 3, p. a021667, 2015.

SQUIRE, L. R.; GENZEL, L.; WIXTED, J. T.; MORRIS, R. G. Memory Consolidation. **Cold Spring Harbor perspectives in biology**, v. 7, n. 8, 2015.

SQUIRE, L. R.; ZOLA, S. M. Structure and function of declarative and nondeclarative memory systems. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 93, n. 24, p. 13515–22, 1996.

STARESINA, B. P.; BERGMANN, T. O.; BONNEFOND, M.; et al. Hierarchical nesting of slow oscillations, spindles and ripples in the human hippocampus during sleep. **Nature Neuroscience**, v. 18, n. 11, p. 1679–1686, 2015.

STARESINA, B. P.; DUNCAN, K. D.; DAVACHI, L. Perirhinal and parahippocampal cortices differentially contribute to later recollection of object- and scene-related event details. **The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience**, v. 31, n. 24, p. 8739–47, 2011.

STERPENICH, V.; SCHMIDT, C.; ALBOUY, G.; et al. Memory reactivation during rapid eye movement sleep promotes its generalization and integration in cortical stores. **Sleep**, v. 37, n. 6, p. 1061–75, 1075A–1075B, 2014.

STICKGOLD, R.; WALKER, M. P. Sleep-dependent memory triage: evolving generalization through selective processing. **Nature Neuroscience**, v. 16, n. 2, p. 139–145, 2013.

SWICK, T. J. The neurology of sleep. **Neurologic clinics**, v. 23, n. 4, p. 967–89, v, 2005.

SWICK, T. J. The Neurology of Sleep: 2012. **Sleep Medicine Clinics**, v. 7, n. 3, p. 399–415, 2012.

TAKAHASHI, M. The role of prescribed napping in sleep medicine. **Sleep Medicine Reviews**, v. 7, n. 3, p. 227–235, 2003.

TAMAKI, M.; HUANG, T.-R.; YOTSUMOTO, Y.; et al. Enhanced spontaneous oscillations in the supplementary motor area are associated with sleep-dependent offline learning of finger-tapping motor-sequence task. **The Journal**

of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience, v. 33, n. 34, p. 13894–902, 2013.

TONONI, G.; CIRELLI, C. Sleep function and synaptic homeostasis. **Sleep medicine reviews**, v. 10, n. 1, p. 49–62, 2006.

TONONI, G.; CIRELLI, C. Sleep and the price of plasticity: from synaptic and cellular homeostasis to memory consolidation and integration. **Neuron**, v. 81, n. 1, p. 12–34, 2014.

VELDMAN, M. P.; ZIJDEWIND, I.; MAFFIULETTI, N. A.; HORTOBÁGYI, T. Motor Skill Acquisition and Retention after Somatosensory Electrical Stimulation in Healthy Humans. **Frontiers in human neuroscience**, v. 10, p. 115, 2016.

VORSTER, A. P.; BORN, J. Sleep and memory in mammals, birds and invertebrates. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 50, n. 2015, p. 103–119, 2015. Elsevier Ltd.

WAGNER, U.; GAIS, S.; HAIDER, H.; VERLEGER, R.; BORN, J. Sleep inspires insight. **Nature**, v. 427, n. 6972, p. 352–5, 2004.

WALKER, M. P.; BRAKEFIELD, T.; MORGAN, A.; HOBSON, J. A.; STICKGOLD, R. Practice with sleep makes perfect: Sleep-dependent motor skill learning. **Neuron**, v. 35, n. 1, p. 205–211, 2002.

WALKER, M. P.; HELM, E. VAN DER. Overnight therapy? The role of sleep in emotional brain processing. **Psychological bulletin**, v. 135, n. 5, p. 731–748, 2009.

WALKER, M. P.; STICKGOLD, R. Sleep-dependent learning and memory consolidation. **Neuron**, v. 44, n. 1, p. 121–33, 2004.

WATSON, B. O.; BUZSÁKI, G. Sleep, Memory & Brain Rhythms. **Daedalus**, v. 144, n. 1, p. 67–82, 2015.

WILSON, M. A.; MCNAUGHTON, B. L. Reactivation of hippocampal ensemble memories during sleep. **Science (New York, N.Y.)**, v. 265, n. 5172, p. 676–9, 1994.

8. ANEXOS

UNIVERSIDADE FEDERAL DO
PARANÁ - SETOR DE CIÊNCIAS
DA SAÚDE/ SCS - UFPR



PROJETO DE PESQUISA

Título: Sesta e Consolidação do Aprendizado
Área Temática:
Versão: 2
CAAE: 01783212.2.0000.0102
Pesquisador: Sofia Isabel Ribeiro Pereira
Instituição: Universidade Federal do Paraná - Setor de
Ciências da Saúde/ SCS

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Número do Parecer: 84013
Data da Relatoria: 17/09/2012

Apresentação do Projeto:

Apesar de existirem inúmeras evidências sobre a importância do sono para a formação da memória, ainda há poucos estudos sobre que fatores poderiam modular esse processo. Uma das principais linhas de investigação dentro deste tema tem sido o estudo da relação entre memória e sono (DIEKELMANN & BORN, 2010). Estudos comportamentais, eletrofisiológicos e de neuroimagem em humanos dão respaldo à noção de que a formação da memória depende das modificações do funcionamento cerebral que ocorrem durante o sono. Além da memória declarativa, estudos têm mostrado a importância do sono na formação de memórias não declarativas, como por exemplo, o desenvolvimento de habilidades motoras e sugerem que estímulos sensoriais apresentados durante o sono podem levar a um fortalecimento preferencial das memórias com as quais estes foram associados porém atualmente esta hipótese necessita de mais evidências experimentais para que possa ser efetivamente confirmada.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Geral
Avaliar o efeito da estimulação somestésica durante o sono sobre o aprendizado motor.
Objetivos Específicos
- Avaliar o efeito da estimulação mecânica da pele durante o estágio 2 de sono sobre a consolidação do aprendizado motor.
- Avaliar o efeito da estimulação mecânica da pele durante o estágio 2 de sono sobre o eletroencefalograma.
- Analisar e comparar o eletroencefalograma dos sujeitos durante a realização do treino e do teste e a influência da estimulação e do sono.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:
Alergia de contato por uso do actímetro; Alergia aos produtos utilizados para colocar os eletrodos;
Benefícios:
Conhecimento dos hábitos de sono e a possível relação entre sono e desempenho motor.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O recrutamento será feito por meio de convite verbal a alunos dos primeiros semestres dos cursos de Ciências Biológicas e de Biomedicina cujas disciplinas dos dois primeiros semestres são realizadas no setor de Ciências Biológicas. Os critérios de inclusão adotados para a composição da amostra serão: idade entre 18 e 35 anos, estar matriculado em disciplinas realizadas no setor de Ciências

Endereço: Rua Padre Camargo, 280

Bairro: 2º andar

CEP: 80.060-240

UF: PR

Município: CURITIBA

Telefone: (41)3360-7259

E-mail: cometica.saude@ufpr.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DO
PARANÁ - SETOR DE CIÊNCIAS
DA SAÚDE/ SCS - UFPR



Biológicas da Universidade Federal do Paraná

Serão excluídos da amostra sujeitos que apresentarem qualquer distúrbio relacionado ao sono, ou distúrbio de ritmo biológico. Usuários de medicamentos que afetem o sono ou a cognição também serão excluídos da amostra. Essas informações serão obtidas por meio de um questionário de dados pessoais entregue no dia do convite para a participação do estudo.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

atende a resolução 196/96.

Recomendações:

O pesquisador deverá solicitar carimbo de aprovação no Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, junto a Secretaria do CEP/SD, antes de sua aplicação.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Foram apresentadas as cartas de anuência das coordenações, dos cursos de Ciências Biológicas e Biomedicina.

No total, participarão do estudo 90 alunos saudáveis da UFPR, dos cursos de Ciências Biológicas e Biomedicina, com idade entre 18 e 35 anos. Os sujeitos serão convidados a participar do estudo por meio de exposição oral do projeto nas salas de aula com permissão do professor e da página do Laboratório de Cronobiologia Humana na rede social Facebook - <http://www.facebook.com/laboratoriodecronobiologia.ufpr> No TCLE foi esclarecido que o Eletromiograma é de superfície..

Foi também esclarecido que será empregado estimulação tátil mecânica durante a sesta no desempenho motor.

Conclusão:

Foram atendidas todas as pendências.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

CURITIBA, 28 de Agosto de 2012

Assinado por:
Claudia Seely Rocco



Contents lists available at ScienceDirect

Sleep Medicine Reviews

journal homepage: www.elsevier.com/locate/smr

CLINICAL REVIEW

State of the art on targeted memory reactivation: Sleep your way to enhanced cognition

Daphne I. Schouten^{a,*,1}, Sofia I.R. Pereira^{b,**,1}, Mattie Tops^a, Fernando M. Louzada^b^a Department of Clinical Psychology, VU University Amsterdam, The Netherlands^b Physiology Department, Federal University of Paraná, Curitiba, Paraná, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:
 Received 13 December 2015
 Received in revised form
 19 March 2016
 Accepted 13 April 2016
 Available online xxx

Keywords:

Sleep
 Slow wave sleep
 Rapid eye movement sleep
 Targeted memory reactivation
 Memory consolidation
 Neuronal replay
 Cueing
 Synaptic homeostasis hypothesis
 Active system consolidation hypothesis
 Electroencephalography

SUMMARY

Targeted memory reactivation is a fairly simple technique that has the potential to influence the course of memory formation through application of cues during sleep. Studies have shown that cueing memory during sleep can lead to either an enhanced or decreased representation of the information encoded in the targeted networks, depending on experimental variations. The effects have been associated with sleep parameters and accompanied by activation of memory related brain areas. The findings suggest a causal role of neuronal replay in memory consolidation and provide evidence for the active system consolidation hypothesis. However, the observed inconsistencies across studies suggest that further research is warranted regarding the underlying neural mechanisms and optimal conditions for the application of targeted memory reactivation. The goal of the present review is to integrate the currently available experimental data and to provide an overview of this technique's limitations and pitfalls, as well as its potential applications in everyday use and clinical treatment. Exploring the open questions herein identified should lead to insight into safer and more effective ways of adjusting memory representations to better suit individual needs.

© 2016 Elsevier Ltd. All rights reserved.

Introduction

Over the last few years, memory researchers have developed promising new ways to track and influence the course of memory evolution. Sleep represents an optimal time window for memory consolidation, as has been extensively discussed in previous publications [1–4] (for a review on sleep and memory definitions, please refer to [5] and [6,7], respectively).

The technique known as 'targeted memory reactivation' (TMR) [8] emerged recently as a promising tool to aid in unraveling the

mechanisms of sleep-dependent memory consolidation. TMR is based on evidence showing that hippocampal neuronal networks recruited for encoding new information are spontaneously reactivated during sleep [9–11], thereby strengthening the representations therein stored [11,12]. In a typical TMR protocol, the sleeping brain is exposed to an olfactory [13] or auditory [14] cue present in the context where learning took place. When an engram is cued, it is assumed that neuronal replay is artificially triggered, which most likely benefits memory consolidation through the same mechanisms triggered by spontaneous reactivations. However, a thorough description of how a cue is able to bias the content of hippocampal replay towards its associated material is yet to be put forward.²

Abbreviations: NREM, non-rapid eye movement; NREM 2, non-rapid eye movement sleep stage two; REM, rapid eye movement; SHY, synaptic homeostasis hypothesis; SWS, slow wave sleep; TMR, targeted memory reactivation.

* Corresponding author. Department of Clinical Psychology, VU University Amsterdam, Van der Boechorstraat 1–3, 1081 BT, Amsterdam, The Netherlands. Tel.: +31 630036383.

** Corresponding author. Human Chronobiology Laboratory, Department of Physiology, Federal University of Paraná, Centro Politécnico, Jardim das Américas, 81531-990, Curitiba, Paraná, Brazil. Tel.: +55 4133611552.

E-mail addresses: daphne.schouten@live.nl (D.I. Schouten), sofia@ufpr.br (S.I.R. Pereira).

¹ These authors contributed equally to this paper.

² Many studies claim to have elicited 'memory reactivation' through cue presentation, but without direct experimental evidence this is in fact an assumption. There is still no consensus on the actual manner in which memory is consolidated and 'memory reactivation' is but one of the possible explanations (passive protection from interference and synaptic downscaling are two alternatives, among others). In addition, it is the network of neurons representing a given engram that could potentially be subjected to reactivation, not the 'memory' per se. Hence, we propose that the term 'targeted memory reactivation', widely used in the literature and also in the present report for consistency, warrants reviewing.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.smr.2016.04.002>

1087-0792/© 2016 Elsevier Ltd. All rights reserved.

HOSTED BY



ELSEVIER

Available online at www.sciencedirect.com

ScienceDirect

www.elsevier.com/locate/ssci

Short Communication

Re-examining sleep's effect on motor skills: How to access performance on the finger tapping task?

Sofia Isabel Ribeiro Pereira^{*}, Felipe Beijamini, Roberta Almeida Vincenzi, Fernando Mazzilli Louzada

^aDepartment of Physiology, Federal University of Paraná, Curitiba, Paraná, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 13 October 2014

Received in revised form

6 January 2015

Accepted 28 January 2015

Keywords:

Motor skills

Finger tapping task

Daytime nap

ABSTRACT

Here our goal was to determine the magnitude of sleep-related motor skill enhancement. Performance on the finger tapping task (FTT) was evaluated after a 90 min daytime nap ($n=15$) or after quiet wakefulness ($n=15$). By introducing a slight modification in the formula used to calculate the offline gains we were able to refine the estimated magnitude of sleep's effect on motor skills. The raw value of improvement after a nap decreased after this correction (from $\sim 15\%$ to $\sim 5\%$), but remained significantly higher than the control. These results suggest that sleep does indeed play a role in motor skill consolidation.

© 2015 Brazilian Association of Sleep. Published by Elsevier B.V. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Daily activities such as riding a bike, knitting, typing, playing a musical instrument or playing a sport, collectively known as motor skills, characteristically require repeated practice until they can be performed automatically [1]. Inside the lab, motor skills are probed through a variety of tasks, such as the finger-to-thumb opposition task [2], the serial reaction time task [3] and the finger tapping task [4].

The finger tapping task (FTT) consists of typing a numeric sequence with the non-dominant hand as fast and as accurately as possible. It is commonly used to probe explicitly learnt motor sequences, that is, the subject is aware of the sequence underlying the motor output he is asked to produce [4]. On the other hand, tests like the serial reaction time task

are used to probe implicitly learnt motor sequences since, unbeknown to the participant, there is a hidden structure behind the movements he is required to perform while pushing a collection of buttons in response to a given cue [3].

Performance on the FTT has been shown to improve by 20% after a night of sleep, but not after an equal period of wakefulness [4]. Additionally, the magnitude of improvement was correlated with the amount of time spent in non-rapid eye movement (NREM) sleep stage 2 [4]. According to Nishida and Walker (2007), a similar offline gain on the FTT (approximately 15%) can also be obtained after a 90 min daytime nap. The authors reported not only a positive correlation with time in NREM 2 but also with the spindle density specific to

Abbreviations: NREM, non-rapid eye movement; SWS, Slow Wave Sleep; TST, total sleep time; WASO, wake after sleep onset; MEQ, Morningness-Eveningness Questionnaire; ESS, Epworth Sleepiness Scale; KSS, Karolinska Sleepiness Scale; EEG, electroencephalogram; FTT, finger tapping task; OI, offline improvement

^{*}Correspondence to: Department of Physiology, Federal University of Paraná, Centro Politécnico, Jardim das Américas, 81531-990 Curitiba, Paraná, Brazil. Tel.: +55 41 33611552; fax: +55 41 33611714.

E-mail address: sofiapereira115@hotmail.com (S.I. Ribeiro Pereira).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.slsi.2015.01.001>

1984-0063/© 2015 Brazilian Association of Sleep. Published by Elsevier B.V. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

After Being Challenged by a Video Game Problem, Sleep Increases the Chance to Solve It

Felipe Bejamini*, Sofia Isabel Ribeiro Pereira, Felipe Augusto Cini, Fernando Mazzilli Louzada

Laboratório de Cronobiologia Humana, Departamento de Fisiologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, Brazil

Abstract

In the past years many studies have demonstrated the role of sleep on memory consolidation. It is known that sleeping after learning a declarative or non-declarative task, is better than remaining awake. Furthermore, there are reports of a possible role for dreams in consolidation of declarative memories. Other studies have reported the effect of naps on memory consolidation. With similar protocols, another set of studies indicated that sleep has a role in creativity and problem-solving. Here we hypothesised that sleep can increase the likelihood of solving problems. After struggling to solve a video game problem, subjects who took a nap ($n = 14$) were almost twice as likely to solve it when compared to the wake control group ($n = 15$). It is interesting to note that, in the nap group 9 out of 14 subjects engaged in slow-wave sleep (SWS) and all solved the problem. Surprisingly, we did not find a significant involvement of Rapid Eye Movement (REM) sleep in this task. Slow-wave sleep is believed to be crucial for the transfer of memory-related information to the neocortex and implement intentions. Sleep can benefit problem-solving through the generalisation of newly encoded information and abstraction of the gist. In conclusion, our results indicate that sleep, even a nap, can potentiate the solution of problems that involve logical reasoning. Thus, sleep's function seems to go beyond memory consolidation to include managing of everyday-life events.

Citation: Bejamini F, Pereira SIR, Cini FA, Louzada FM (2014) After Being Challenged by a Video Game Problem, Sleep Increases the Chance to Solve It. PLoS ONE 9(1): e84342. doi:10.1371/journal.pone.0084342

Editor: Giorgio F. Gilestro, Imperial College London, United Kingdom

Received: August 14, 2013; **Accepted:** November 14, 2013; **Published:** January 8, 2014

Copyright: © 2014 Bejamini et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Funding: This work was supported by Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). FML is recipient of a CNPq Productivity Fellowship. FB and SIRP are supported by a doctorate fellowship from Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES). The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Competing Interests: The authors have declared that no competing interests exist.

* E-mail: bejamini@gmail.com

Introduction

In the past decades many studies have suggested that memory-consolidation is a function of sleep [1,2]. These studies were performed with a whole night of sleep [3] (for review see [1]), in a split night with early and late nocturnal sleep [4,5], or even with a single nap paradigm [6]. In animals, there is evidence of the replaying of memory traces during sleep, from neuronal [7] to molecular levels of plasticity [8]. Complementary, humans exposed to a virtual maze improve their performance on it after sleep [9]. Spatial orientation and navigation are known to be essentially hippocampus-dependent tasks [10] and hippocampal structures are also related to imagination and prediction [11]. Study results have found that sleep [12] and particularly slow-wave sleep [13,14] plays a crucial role in the hippocampal-cortex dialog and consolidation of memories. Moreover, dreams during non-rapid eye movement (NREM) sleep may help to consolidate hippocampus-dependent memories. After playing a video-game, subjects whose dream mentation was related to the game, improved their performance on subsequent testing [15].

Sleep has also been shown to improve problem-solving and creativity. Studies have evaluated the effect of sleep on different subsets of problem solving such as generation of new associations [16,17], insight [18], transition of implicit to explicit knowledge [19–21], abstraction of rules through grammar extraction, discrimination between rules [22] and creativity [23,24]. Reactivations of hippocampal-dependent memories [25,26] and non-

hippocampal-dependent memories [27] indicate that sleep is important not only for stabilizing or strengthening memory traces, but also, to knowledge generalisation [28,29]. Considering this evidence, it has been suggested that sleep's role is beyond the replay of memories during sleep.

The seminal work done by Wagner and colleagues in 2004 showed that sleep can increase the gain of insight. In that experiment, subjects learned a modified version of Number Reduction Task (NRT) with a hidden abstract rule. Discovering the hidden rule was considered insight. Subjects in the sleep group were twice as likely to discover the rule compared to the non-sleep group [18]. Beyond the gain of insight, the effect of sleep on the resolution of NRT was related to the transformation of implicit to explicit knowledge. Another study has suggested that SWS can be responsible for this transformation [19].

Additional support for the idea that sleep can boost problem-solving and creativity came from studies performed with the Remote Associates Test (RAT). Subjects were instructed to find a new word that was associated with three test words that did not seem to be related to each other. Rapid eye movement (REM) sleep improved the performance on the RAT [17].

In conclusion, several studies support the importance of sleep for memory consolidation, including information of future relevance [30] and also implementation of intentions [31]. However, to what extent does sleep play a role in problem-solving? Does sleep help to solve logical reasoning problems?