



# Università degli Studi di Ferrara

## DOTTORATO DI RICERCA IN "Modelli, Linguaggi e Tradizioni nella Cultura Occidentale"

CICLO XXI

COORDINATORE Prof. Paolo Fabbri

### **Un nuovo approccio metodologico per l'indagine della modificazione del riflesso di trasalimento (startle) nei primi mesi di vita**

Settore Scientifico Disciplinare M-PSI/04

**Dottorando**

Dott. Agnoli Sergio

---

*(firma)*

**Tutore**

Prof. Dondi Marco

---

*(firma)*

Anni 2006/2008



## **Riassunto**

### **Un nuovo approccio metodologico per l'indagine della modificazione del riflesso di trasalimento (startle) nei primi mesi di vita**

Il riflesso di trasalimento (startle) è una reazione innata di tipo difensivo (Lang, 1995; Yeomans, Li, Scott, & Frankland, 2002), deputata all'immediata reazione dell'organismo in seguito ad uno stimolo improvviso e di forte intensità. Lo startle soddisfa ampiamente i requisiti necessari per essere usato strumento d'indagine in quanto è modificabile dall'esperienza, è facilmente ed universalmente elicicabile (Landis & Hunt, 1939) e le sue caratteristiche fisiche e temporali sono ben conosciute e controllabili (Costa & Ricci Bitti, 1998; Davis, Hitchcock, & Rosen, 1987).

Nonostante l'importanza dello studio di questo riflesso in diversi ambiti di ricerca (dallo studio dei fenomeni motivazionali, emotivi, attentivi, all'individuazione di patologie a carico del sistema nervoso centrale; Balaban, 1996; Lang, 1995; Richards, 1998; Precht & Beintema, 1964), la modificazione dello startle rimane un fenomeno ancora relativamente inesplorato nella prima infanzia. Lo scarso utilizzo dello startle registrato sino ad ora nella ricerca psicologica dello sviluppo può essere imputato principalmente a due problematiche: la difficoltà nell'individuare e sviluppare nuove metodologie adatte ad indagare la modificazione dello startle nelle prime fasi dello sviluppo; l'intrusività ed l'invasività della misurazione che comunemente viene adottata nella rilevazione della risposta di startle, cioè l'elettromiografia del riflesso di ammiccamento palpebrale.

Nel presente lavoro vengono proposti due studi sperimentali che indagano la modificazione dello startle attraverso una nuova metodologia misurativa di tipo non invasivo (AIMMSS) e un nuovo paradigma sperimentale basato sull'utilizzo degli indici espressivo-facciali infantili. In particolare, gli indici principali associati all'esibizione di espressioni facciali positive (sorriso) e negative (distress) sono stati codificati mediante l'utilizzo dei più noti sistemi di codifica del comportamento facciale infantile (Baby FACS, Oster, in corso di stampa; AFFEX, Izard, Dougherty, & Hembree, 1983; MAX, Izard, 1979). Il primo studio (N = 12) propone un'indagine della modulazione affettiva della risposta di startle elicitata in concomitanza dell'esibizione spontanea da parte di infanti di 5 mesi di vita di espressioni facciali positive (sorriso) e di espressioni facciali negative (distress). I risultati ottenuti inducono ad ipotizzare che le espressioni facciali agiscano come una sorta di *priming* motivazionale in grado di diversificare, a seconda del loro carattere negativo (distress) o positivo (sorriso), l'intensità della risposta di startle elicitata immediatamente dopo la loro

esibizione. Il secondo studio (N = 26) propone, invece, un'analisi delle influenze modulatorie esercitate sia dallo stato attentivo sia dallo stato emozionale esibito da infanti di 3 e di 5 mesi di vita sulla risposta di startle. Il risultato principale evidenzia una sinergia del sistema attentivo e del sistema emozionale nel determinare il fenomeno della modulazione affettiva della risposta di startle.

**Parole chiave:** riflesso di trasalimento, startle, prima infanzia, misurazioni non invasive, espressioni facciali di emozione, modulazione affettiva, modulazione attentiva

## **Abstract**

### **A new methodological approach for the analysis of the startle reflex modification in early infancy**

The startle reflex is an innate defensive reaction (Lang, 1995; Yeomans, Li, Scott, & Frankland, 2002), delegate to the instantaneous reaction following an unexpected and intense stimulus. The startle widely satisfies the requirements essential to be used as a research tool, since it is modified by the experience, it is easily and universally elicitable (Landis & Hunt, 1939), and its physical and temporal characteristics are well known and highly controllable (Costa & Ricci Bitti, 1998; Davis, Hitchcock, & Rosen, 1987).

Yet, despite the importance of the study of this reflex in various research fields (from the study of motivational, emotional and attentive phenomena, to the investigation of neurological, neurophysiological and neuropsychological diseases; Balaban, 1996; Lang, 1995; Richards, 1998; Prechtel & Beintema, 1964), the startle modification is still relatively unexplored in early infancy. This lack in developmental psychological research is mainly due to two problems: the difficulty to identify and develop new methodologies suitable to explore the startle modification in early infancy; the intrusiveness and invasiveness of the commonly used measurement methodology, that is the eyeblink electromyography.

Two experimental studies are presented in this dissertation. They were designed to explore the startle modification by using a new non-invasive methodology (AIMMSS) and a new experimental paradigm based on the use of infants facial expressions. In particular, the main indexes of positive (smile) and negative (distress) facial expressions were analysed using the most known anatomically based systems to coding the infants' facial behaviour (Baby FACS, Oster, in press; AFFEX, Izard, Dougherty, & Hembree, 1983; MAX, Izard, 1979). The first study (N = 12) was aimed at analysing the affective modulation of the startle response elicited during the 5-month-old infants' spontaneous exhibition of positive facial expressions (smile) and negative facial expressions (distress). The data obtained induce to hypothesize that the facial expressions act like a sort of motivational priming able to diversify, depending on their negative (distress) or positive (smile) nature, the intensity of the startle response elicited immediately after their exhibition. The second study (N = 26) was designed to analyse the modulatory influences exerted on the startle response by both the attentive state and the emotional state displayed by 3- and 5-month-old infants. The main result highlights that a synergy between the attentive and emotional systems cause the phenomenon of the affective modulation of the startle response.

**Key words:** startle response, infancy, non-invasive measurements, emotional facial expressions, affective modulation, attentive modulation

## Ringraziamenti

Desidero ringraziare tutte le persone che mi hanno accompagnato nella realizzazione di questo lavoro, con la loro competenza scientifica, con la loro amicizia, con il loro sostegno.

Un primo ringraziamento al Prof. Marco Dondi, che ha saputo infondermi una coscienza scientifica dei fenomeni psicologici. In un viaggio durato anni mi ha accompagnato e consigliato, ma mai obbligato: un grazie anche per questo.

Poiché in fondo ogni giorno era un bel giorno per lavorare, grazie a Laura Franchin e Tiziana Vacca. Scienza e amicizia: un bel connubio per un gruppo di ricerca.

Per la paziente lettura ed i consigli nella stesura di questo lavoro, ancora mille grazie al Prof. Marco Dondi ed alla Dott.ssa Laura Franchin.

Un ringraziamento particolare è rivolto ai bambini ed ai genitori che hanno partecipato agli esperimenti di questa tesi. Un grazie anche a Agnese Malpeli, Rosaria Guerra, Sara Antonelli, Francesca Conti, per il loro aiuto nella raccolta dei dati.

Infine grazie alla mia famiglia, papà, mamma, Adri e zia, per offrirmi un costante supporto, una incondizionata comprensione e un'amorevole cura. Un particolare ringraziamento anche a tutti gli amici che a Brunico, a Ziano e a Padova mi accolgono come se fossi sempre lì.

Ferrara, Marzo 2009

Sergio Agnoli





# Indice

<b>Introduzione</b>	1
<b>Background teorico</b>	
Caratteristiche principali della risposta di startle	7
Una descrizione della risposta	7
Funzioni adattive dello startle	8
L'elicitazione dello startle nella ricerca neurofisiologica	10
Fondamenti biologici: strutture neurali dello startle	12
Metodologie misurative della risposta: da startle a <i>blink</i>	13
La scoperta della modificabilità della risposta di startle	16
La modulazione affettiva della risposta di startle	18
Strutture modulatorie: strutture neurali responsabili della modificazione dello startle	24
La modulazione attentiva della risposta di startle	26
La risposta di startle nell'indagine sulle prime fasi dello sviluppo	26
Modulazione affettiva	28
Modulazione attentiva	30
Problematiche nell'indagine della risposta di startle nei primi mesi di vita	32
<b>Capitolo 2. Nuove proposte metodologiche per l'indagine della risposta di startle nei primi mesi di vita</b>	
Da <i>blink</i> a <i>whole body startle</i> : un nuovo approccio misurativo della risposta di startle	35

Una metodologia innovativa per la misurazione non-invasiva dello startle nella prima infanzia: l'Automated Infant Motor Movement Startle Seat (AIMMSS)	37
Un nuovo protocollo non-invasivo per l'indagine della risposta motoria globale di startle nella prima infanzia	40
Asimmetrie posturali e facciali della risposta di startle in infanti di 5 mesi di vita	42
La modulazione affettiva della risposta di startle come indice degli stati emozionali positivi e negativi in infanti di 3 e di 5 mesi di vita	44
Da stimoli affettivi ad indici espressivo-facciali: una nuova proposta per l'indagine dello sviluppo della modificazione della risposta di startle	46
<b>Studio 1. Esibizione spontanea di espressioni facciali di emozione e modificazione della risposta di startle in lattanti di 5 mesi di vita</b>	
Introduzione	51
Metodo	
Partecipanti	55
Misurazioni della risposta di startle	55
Automated Infant Motor Movement Startle Seat (AIMMSS)	55
Eye-Blink Strength (EBS) Scale	56
Codifica delle espressioni facciali	57
Procedura	59
Analisi dei dati	60
Risultati	61
AIMMSS	61
EBS Scale	63
Discussione	65

## **Studio 2. Stati attentivi e stati affettivi nella modificazione della risposta di startle in bambini di 3 e 5 mesi di vita.**

Introduzione	69
Metodo	
Partecipanti	74
Misurazione della risposta di startle	74
Stimoli acustici	75
Procedura	75
Codifica dell'attenzione	75
Codifica delle espressioni facciali	77
Analisi dei dati	78
Risultati	79
Latenza della risposta di startle	80
Ampiezza della risposta di startle	81
Discussione	82
<b>Conclusioni generali</b>	<b>87</b>
<b>Appendice teorica</b>	
Una riflessione sull'utilità della modulazione affettiva della risposta di startle nell'indagine dello sviluppo emozionale	93
<b>Riferimenti bibliografici</b>	<b>99</b>



## Introduzione

Nonostante l'alta razionalità che contraddistingue l'essere umano, siamo ancora in balia di alcune reazioni che ci proteggono in maniera del tutto automatica dai pericoli provenienti dall'ambiente. Generalmente il nostro corpo trasale in modo automatico se percepiamo una stimolazione forte ed improvvisa proveniente dall'ambiente circostante e se ci troviamo in una situazione che potrebbe essere potenzialmente pericolosa. In particolare, la reazione deputata all'immediata risposta dell'organismo in seguito ad uno stimolo improvviso e di forte intensità, è la risposta di startle, conosciuta nella letteratura italiana anche come riflesso di trasalimento, di allarme o di soprassalto.

Lo startle si presenta come una complessa risposta motoria a stimoli acustici, visivi o tattili, brevi, improvvisi e di forte intensità. Questa reazione è presente nell'essere umano a partire dalle 26 - 28 settimane di età post-concezionale e permane per tutto il corso della vita. Gli ambiti di studio in cui è stata indagata questa risposta sono molteplici e comprendono un'ampia gamma di discipline scientifiche, dalla neurologia pediatrica, alla neuropsicologia, alla neurofisiologia in generale (Agnoli, Dondi, Mendini, & Franchin, 2007). Ciò che accomuna l'indagine nei diversi settori di ricerca è certamente la funzione di sonda o marcatore biologico rivestita dallo startle: questa risposta è infatti in grado di fornire precise informazioni sul grado di reattività di un organismo ad uno stimolo improvviso e potenzialmente dannoso.

La ricerca neuroscientifica ha individuato le condizioni che consentono di modificare (o modulare) la risposta di startle e se ne è servita come indice, marcatore o *probe* (sonda) per inferire attività cognitive, motivazionali o emozionali non direttamente osservabili. In psicologia, in particolare, la risposta di startle viene utilizzata come indice dei cambiamenti di tipo psicofisiologico le cui fluttuazioni dipendono da attività psicologiche, come i processi cognitivi o le emozioni.

L'interesse della ricerca psicologica è rivolto principalmente all'approfondimento di due fenomeni conosciuti in letteratura come *modulazione affettiva* e *modulazione attentiva* della risposta di startle (Graham, 1997; Lang, 1995). E' noto infatti che la velocità (latenza) ed intensità (ampiezza) della risposta possono variare in relazione alla condizione emozionale o motivazionale di un soggetto. È stato ripetutamente dimostrato che la risposta di startle è potenziata quando lo stato emotivo di un individuo è caratterizzato da tono edonico negativo, mentre risulta inibita quando lo stato emotivo è caratterizzato da tono edonico positivo (Bradley, Codispoti, Cuthbert, & Lang, 2001; Bradley, Codispoti, & Lang, 2006; Bradley,

Cuthbert, & Lang, 1993; Lang, 1995). Anche gli studiosi dell'attenzione si sono serviti delle caratteristiche modulatorie proprie dello startle per indagare alcuni aspetti del sistema attentivo e, in particolare, per mettere in evidenza l'influenza esercitata dai processi cognitivi sulle attività di natura riflessa. E' stato scoperto, infatti che latenza ed ampiezza dello startle sono modulate dalle diverse condizioni attentive in cui si trova l'organismo (Anthony & Graham, 1983, 1985; Balaban, 1996). In particolare, l'ampiezza della risposta risulta potenziata quando l'attenzione è focalizzata e quando la modalità sensoriale, acustica o visiva, dello stimolo oggetto di attenzione e dello stimolo elicitante lo startle sono congruenti (per esempio, un brano musicale di sottofondo e un picco di rumore bianco, oppure uno stimolo visivo e un flash di luce abbagliante).

Sebbene l'indagine della risposta di startle non abbia trovato una diffusa applicazione nella ricerca sullo sviluppo, il suo utilizzo nei primi mesi di vita ha portato risultati di grande interesse sia nell'ambito dello studio dei processi affettivi, sia nell'ambito dello studio dei processi attentivi. Grazie all'indagine della modulazione affettiva della risposta di startle in lattanti di 5 mesi, Balaban (1995) è riuscita a dimostrare che a tale età gli infanti sono in grado di discriminare e di comprendere il significato affettivo di alcune espressioni facciali, inibendo la risposta durante la visione di immagini raffiguranti volti sorridenti (in grado di determinare, secondo l'autrice, uno stato emozionale positivo), e potenziando la risposta durante la visione di volti arrabbiati (in grado di determinare, secondo l'autrice, uno stato emozionale negativo). Inoltre, in due studi distinti Richards nel 1998 e nel 2000, ha approfondito gli effetti modulatori dell'attenzione sullo startle nelle prime fasi dello sviluppo. Entrambi gli studi hanno evidenziato una modulazione della risposta di startle determinata dalla condizione attentiva degli infanti. In particolare, a partire dai 3 mesi di vita, la latenza diminuiva e l'ampiezza aumentava (facilitazione o potenziamento della risposta) quando l'attenzione del soggetto era rivolta verso lo stimolo di sfondo (attenzione ancorata), mentre la latenza aumentava e l'ampiezza diminuiva (inibizione della risposta) durante una fase di attenzione libera o non ancorata (Richards, 2000).

L'analisi della risposta di startle sembra essere in grado di fornire, quindi, informazioni essenziali circa lo sviluppo delle emozioni e dell'attenzione, proponendosi come una nuova e preziosa metodologia utilizzabile sin dalle prime settimane di vita. Tuttavia, le ricerche pubblicate sono molto poche e questo paradigma stenta ancora oggi ad assumere un ruolo centrale nella ricerca sullo sviluppo umano. Probabilmente le ragioni fondamentali che giustificano questo ritardo rispetto alla notevole diffusione del paradigma nello studio degli adulti, sono essenzialmente due: l'intrusività e l'invasività della misurazione che

comunemente viene adottata nella rilevazione della risposta di startle, cioè l'elettromiografia del riflesso di ammiccamento palpebrale; la difficoltà nell'individuare e sviluppare nuove metodologie adatte ad indagare la modificazione dello startle nelle prime fasi dello sviluppo.

Per quanto concerne l'utilizzo della registrazione elettromiografica, questa tecnica prevede alcune manovre moderatamente invasive, necessarie per l'applicazione degli elettrodi sul volto del bambino (Blumenthal, Cuthbert, Filion, Hackley, Lipp, & Van Boxtel, 2005). E' indispensabile, infatti, provocare una piccola dermoabrasione sulla cute del volto in prossimità della palpebra inferiore. Questa manovra, lievemente dolorosa, determinerebbe negli infanti uno stato iniziale di disagio, inficiando, nel caso in cui oggetto d'indagine sia la modulazione affettiva della risposta, la qualità dei dati raccolti. Tale limite, che deriva dalle modalità stesse attraverso le quali viene rilevata la risposta di startle, ha spinto gli studiosi ad utilizzare con parsimonia il paradigma dello *startle probe* nella ricerca sullo sviluppo, nonostante le sue grandi potenzialità, coinvolgendo soltanto bambini sani e relativamente grandi, a partire, cioè, dai 2-3 mesi di vita.

La seconda problematica è legata principalmente al paradigma sperimentale utilizzato comunemente per l'indagine della modulazione affettiva della risposta di startle: la presentazione di immagini connotate affettivamente. Mediante la presentazione di una serie di diapositive a valenza affettiva positiva e negativa viene infatti solitamente indotto nei soggetti sperimentali uno stato a tono edonico positivo o negativo (Bradley, Cuthbert, & Lang, 1993; Lang, 1995; Waters, Lipp, & Spence, 2005). Tuttavia, la letteratura ha evidenziato una difficoltà nell'individuare stimolazioni dotate di un significato affettivo per infanti nei primi mesi di vita, in grado cioè di modulare affettivamente la risposta di startle. Le immagini connotate affettivamente utilizzate per l'indagine della modulazione negli adulti, avrebbero infatti una scarsa salienza affettiva durante la prima infanzia. Inoltre, questo paradigma sperimentale non è in grado di scindere l'effetto che lo stato attentivo e lo stato affettivo hanno sulla modificazione della risposta di startle. Poiché sia lo stato attentivo sia lo stato emozionale sono in grado di modificare latenza ed ampiezza della risposta di startle, non è possibile, mediante la presentazione di immagini (dove l'attenzione è sempre ancorata, cioè rivolta allo stimolo), indagare separatamente il ruolo esercitato da attenzione ed emozione nel fenomeno della modulazione affettiva della risposta di startle.

In seguito ad un'analisi di tali problematiche, questo lavoro presenta due nuove proposte metodologiche per l'indagine della modificazione della risposta di startle nelle prime fasi dello sviluppo. In primo luogo viene presentata una nuova metodologia misurativa non invasiva e non intrusiva basata sulla rilevazione della risposta motoria globale di startle

(*whole body startle*): l'*Automated Infant Motor Movement Startle Seat* (AIMMSS). L'utilizzo dell'AIMMSS è già stato testato nella rilevazione della risposta di startle in differenti disegni sperimentali. I primi dati hanno dimostrato l'estrema sensibilità ed affidabilità di questa strumentazione nella rilevazione dei parametri (latenza ed ampiezza) della risposta motoria globale di startle esibita dai bambini in diverse situazioni sperimentali (Agnoli, Dondi, Franchin, & Scatturin, 2007; Dondi, 2008; Dondi, Franchin, Agnoli, Vacca, & Scatturin, 2005; Franchin, 2006; Franchin, Dondi, Agnoli, & Scatturin, 2007).

In secondo luogo, il presente lavoro propone un nuovo paradigma sperimentale basato sull'indagine degli indici espressivo-facciali infantili per lo studio della modificazione affettiva dello startle nei primi mesi di vita. L'indagine degli indici espressivo-facciali strettamente associati nella prima infanzia ad uno stato affettivo positivo o negativo, potrebbe consentire infatti di superare alcuni evidenti limiti posti dall'utilizzo di immagini connotate affettivamente nell'indagine della modulazione affettiva dello startle nella prima infanzia. Innanzitutto utilizzando questi indici non sarebbe più necessario chiedersi quali stimoli siano realmente salienti da un punto di vista affettivo nei primi mesi di vita. Inoltre, grazie all'utilizzo di questo paradigma è possibile indagare separatamente il ruolo dello stato affettivo e dello stato attentivo del bambino sulla modificazione della risposta di startle. In particolare, per codificare le espressioni facciali associate nella prima infanzia ad uno stato affettivo positivo (sorriso) o negativo (distress), il presente lavoro si è servito di diverse metodologie di codifica appositamente ideate per l'analisi delle espressioni facciali: Baby FACS, Oster, in corso di stampa; AFFEX, Izard, Dougherty, & Hembree, 1983.

Fulcro dei contributi sperimentali esposti nel terzo e quarto capitolo è l'adozione di un approccio sperimentale basato sull'utilizzo dell'AIMMSS e delle espressioni facciali infantili per l'indagine della modificazione della risposta di startle nelle prime fasi dello sviluppo. Grazie alla partecipazione di 60 lattanti di 3 e 5 mesi di vita è stato possibile indagare all'interno dei due studi effettuati i fenomeni della modulazione affettiva e della modulazione attentiva della risposta di startle.

Scopo del primo studio è l'indagine della modulazione affettiva della risposta di startle elicitata in concomitanza dell'esibizione spontanea da parte di infanti di 5 mesi di vita di espressioni facciali positive (sorriso) e di espressioni facciali negative (distress). Sebbene infatti sorriso e distress possano essere considerate due espressioni facciali peculiari di uno stato emozionale a tono edonico positivo e negativo nella prima infanzia, nessuno studio sino ad ora ha mai indagato la modulazione della risposta di startle proprio in concomitanza dell'esibizione di tali espressioni facciali. Questo esperimento si pone come la prima



esplorazione della modulazione affettiva della risposta di startle elicitata in corrispondenza dell'esibizione spontanea di espressioni facciali non solo nell'infante, ma nell'essere umano in generale. Lo startle elicitato in concomitanza delle espressioni facciali di emozioni potrebbe diventare un marcatore per indagare, nel corso delle primissime fasi dello sviluppo, la relazione esistente tra espressioni facciali e sistema emozionale. Mediante l'utilizzo dell'AIMMSS, l'apparato sperimentale che permette la misurazione non invasiva dello startle, è stato possibile misurare velocità e intensità della risposta motoria globale di startle esibita dagli infanti in seguito ad una stimolazione acustica.

Il secondo studio è invece dedicato all'approfondimento dei ruoli giocati dal sistema attentivo e dal sistema emozionale nella modificazione affettiva della risposta di startle nei primi mesi di vita. L'adozione del paradigma sperimentale della presentazione di immagini connotate affettivamente non ha consentito sinora di comprendere se sia un'interazione tra i due sistemi oppure l'azione isolata del sistema emozionale, indipendentemente dallo stato attentivo di un individuo, a determinare questo effetto. Scopo del secondo studio è indagare le influenze modulatorie esercitate dallo stato attentivo (codificato mediante un'analisi dei movimenti oculari degli infanti) e dallo stato affettivo (codificato mediante un'analisi del comportamento facciale infantile) sulla risposta di startle in lattanti di 3 e di 5 mesi di vita. Anche in questo studio, l'utilizzo dell'AIMMSS ha consentito la rilevazione della velocità e dell'intensità delle risposte di startle elicitate nel corso di una normale interazione madre-bambino.



## Background teorico

### Caratteristiche principali della risposta di startle

#### *Descrizione della risposta*

Lo startle è una reazione innata di tipo difensivo (Lang, 1995; Yeomans, Li, Scott, & Frankland, 2002) comune a tutti i mammiferi (Landis & Hunt, 1939; Yeomans et al., 2002), deputata all'immediata reazione dell'organismo in seguito ad uno stimolo improvviso e di forte intensità, in grado, cioè, di nuocere all'organismo. La risposta di startle, conosciuta nella letteratura italiana anche come riflesso di trasalimento, di allarme o di soprassalto (Agnoli, Dondi, Mendini, & Franchin, 2007; Costa & Ricci Bitti, 1998; Dondi, 2001; Maier, Ambühl-Caesar, & Schandry, 1998), si presenta, infatti, come una complessa risposta motoria a stimoli acustici, visivi o tattili, brevi, improvvisi e di forte intensità. L'esecuzione di questo riflesso comporta la chiusura repentina degli occhi (conseguenza del riflesso di ammiccamento palpebrale, *eyeblink* o più semplicemente *blink*), la contrazione dei muscoli facciali, il movimento in avanti della testa, l'innalzamento e lo spostamento in avanti delle spalle, l'adduzione delle braccia, il piegamento dei gomiti, la pronazione degli avambracci, la chiusura delle mani, il movimento in avanti del tronco, la contrazione dell'addome e il piegamento delle ginocchia (Costa & Ricci Bitti, 1998; Hunt & Landis, 1936; Landis & Hunt, 1936, 1939; Yeomans & Frankland, 1996; Yeomans et al., 2002). Il primo elemento del *pattern* a comparire è il *blink*, seguito dal movimento della testa, mentre gli altri elementi si manifestano subito dopo in rapida successione (Figura 1).



Figure 1.1. Un esempio di risposta di startle in un bambino di 5 mesi di vita. Il primo fotogramma (A) mostra il momento della somministrazione dello stimolo in grado di elicitarla risposta; il bambino è immobile e non presenta ancora nessuna componente della risposta. Il secondo fotogramma (B) mostra l'*onset* della risposta; appaiono le prime componenti della risposta, tra cui l'*eyeblink*. Il terzo fotogramma (C) rappresenta l'apice della risposta; sono evidenti l'adduzione delle braccia ed il piegamento delle ginocchia.

Lo startle soddisfa ampiamente i requisiti necessari per essere usato come strumento d'indagine in quanto è modificabile dall'esperienza, è facilmente ed universalmente elicetabile

(Landis & Hunt, 1939) e le sue caratteristiche fisiche e temporali sono ben conosciute e controllabili (Costa & Ricci Bitti, 1998; Davis, Hitchcock, & Rosen, 1987).

### *Funzioni adattive dello startle*

La risposta di startle è presente nell'essere umano a partire dalle 26 - 28 settimane di età post-concezionale e permane per tutto il corso della vita (Agnoli, Dondi, Franchin, & Stoppa, in corso di stampa; Bellieni, Severi, Bocchi, Caparelli, Bagnoli, Buonocore, et al., 2005; Groome, Gotlieb, Neely, & Waters, 1993; Kuhlman, Burns, Depp, & Sabbagha, 1988). I campi di studio in cui è stata indagata questa risposta sono perciò molteplici e comprendono un'ampia gamma di discipline scientifiche, dalla neurologia pediatrica, alla neuropsicologia, alla neurofisiologica in generale (Agnoli et al., 2007). Ciò che accomuna l'indagine nei diversi settori di ricerca è certamente la funzione di sonda o marcatore biologico rivestita dallo startle: questa risposta è in grado di fornire precise informazioni sul grado di reattività di un organismo ad uno stimolo improvviso e potenzialmente dannoso. Tale funzione è evidentemente centrale per la neurologia in ambito pediatrico, poiché attraverso l'indagine di questa risposta è possibile testare la reattività del SNC già in epoca assai precoce, al fine di diagnosticare eventuali danni neurologici (Brazelton, 1973, 1984; Prechtel & Beintema, 1964). Allo stesso modo, l'indagine di questa funzione è risultata fondamentale anche per l'indagine dell'attenzione e delle emozioni (Anthony & Graham, 1983, 1985; Davis, 2006; Graham, 1997; Lang, 1995). Nel primo caso mediante l'analisi della risposta è possibile indagare le fasi o i processi attentivi che portano l'organismo ad individuare e a reagire alle stimolazioni esterne. Nel caso dell'indagine delle emozioni, mediante lo studio della risposta è possibile indagare la reattività dell'organismo in seguito all'esposizione a stimoli di diversa natura emozionale.

Si è dibattuto a lungo, non senza qualche controversia, sulle funzioni adattive rivestite da tale risposta per la sopravvivenza dell'essere umano (Yeomans et al., 2002). Oltre ad una evidente funzione protettiva (si veda ad esempio la repentina chiusura delle palpebre, determinata dal riflesso di ammiccamento, deputata a proteggere gli occhi) (Koch & Schnitzler, 1997; Yeomans et al., 2002), un'ulteriore importante funzione dello startle è il blocco dell'attività motoria in atto che segue la brusca risposta motoria per consentire un'efficace reazione o analisi dello stimolo improvviso (Landis & Hunt, 1939; Lang, 1995; Yeomans et al., 2002). La contrazione di gran parte dei muscoli del corpo conseguente alla risposta di startle determinerebbe un blocco dell'attività motoria, per permettere all'organismo una prontezza di reazione nei confronti dell'improvviso stimolo potenzialmente nocivo.

Una prima considerazione derivante dall'analisi delle funzioni adattive della risposta è legata al fatto che spesso, nella rumorosa vita quotidiana dell'essere umano, la risposta possa risultare persino maladattiva (Yeomans et al., 2002). Come già specificato, se elicitato nel corso di un'attività motoria coordinata, lo startle interferisce con tale attività. Inoltre se un individuo si trova in un ambiente rumoroso, la sensibilità agli stimoli in grado di provocare la risposta aumenta notevolmente. Oltre a ciò, lo startle determina un blocco dell'attività sensoriale e cognitiva in atto, a cui spesso segue un'accelerazione del battito cardiaco ed un incremento dell'attività simpatica (Yeomans et al., 2002). Ciononostante, la risposta di startle rimane una prova tangibile dell'eredità condivisa dalla specie umana con gli altri mammiferi. Analizzando la complessa risposta motoria che caratterizza lo startle nell'essere umano e comparandola con la risposta di qualsiasi altro mammifero (ad es. il ratto), le somiglianze risultano infatti palesi (Figura 2).

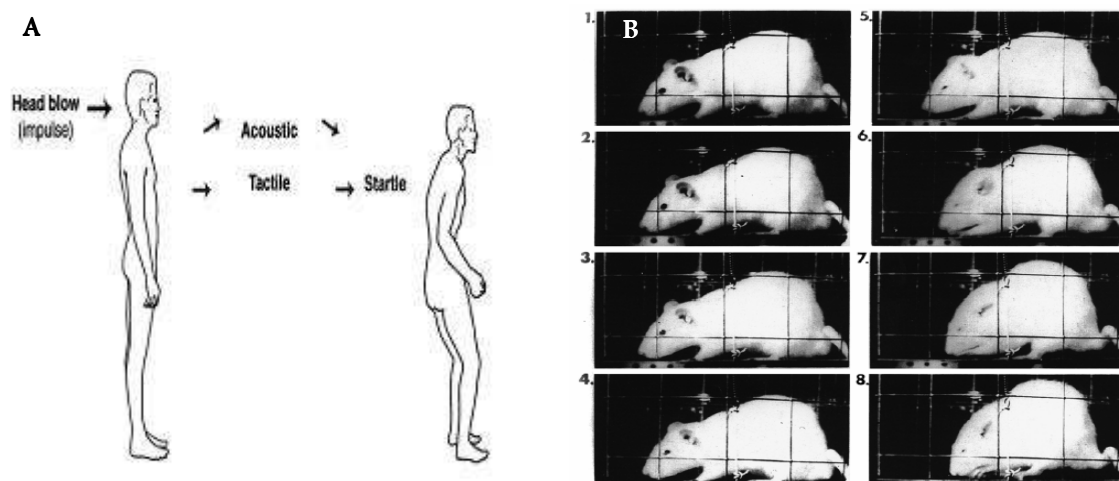


Figura 2. Una rappresentazione della funzione protettiva/difensiva della risposta di startle nell'essere umano (A) e nel ratto (B). Nell'essere umano, al fine di proteggere gli organi vitali presenti nella cassa toracica, si può osservare come il collo si fletta in avanti contraendo i muscoli ventrali, le spalle si sollevino in direzione rostrale, mentre la schiena si elevi in direzione dorsale e le braccia e mani convergano nella zona del torace. Nel ratto mediante una serie di contrazioni muscolari molto simili, viene ridotta la superficie corporea al fine di diminuire l'area esposta all'attacco da parte di un possibile predatore (adattata da Yeomans, J. S., Li, L., Scott, B. W., & Frankland, P. W., *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 2002, 26, 1-11).

Il pattern di startle riveste la funzione di proteggere l'organismo da un pericolo proveniente da una zona non direttamente controllata dall'individuo, in particolare la schiena. Come hanno dimostrato Yeomans et al. (2002), il metodo più efficace per provocare una risposta di startle è per l'appunto la somministrazione di un improvviso colpo alla schiena o alla nuca di un soggetto. I mammiferi hanno una visione ottimale nella zona frontale, oppure, in alcune specie, nella zona laterale, ma in nessun caso nella zona caudale e dorsale. Inoltre, i loro sistemi difensivi più efficaci (denti e artigli) sono nella zona anteriore del corpo. Per tali motivi i predatori sorprendono la preda da dietro e spesso nella zona del collo. Nello startle,

perciò, il collo si flette in avanti contraendo i muscoli ventrali, le spalle si sollevano in direzione rostrale, mentre la schiena si eleva in direzione dorsale. Questa serie di azioni allontanano lo stimolo/predatore dalla zona del collo ed irrigidiscono i muscoli contro una possibile penetrazione. Nello stesso tempo i muscoli toracici ed addominali si irrigidiscono e le braccia e mani convergono nella zona del torace per proteggere gli organi interni. Nel ratto sono evidenti le stesse contrazioni muscolari, che portano ad una sensibile riduzione dell'area esposta all'attacco di un predatore. La breve mancanza di coordinazione dell'attività motoria, cognitiva e sensoriale, sarebbe perciò un piccolo prezzo da pagare per consentire questo genere di protezione. Tanto più che tale blocco delle attività in atto avrebbe lo scopo di facilitare (attraverso una maggiore attivazione determinata da un aumento dell'attività simpatica) le successive risposte necessarie alla fuga o alla difesa (Yeomans et al., 2002).

#### *L'elicitazione dello startle nella ricerca neurofisiologica*

Facendo riferimento alla funzione adattiva rivestita dallo startle, si potrebbe assumere che, per garantire una protezione quanto più completa possibile nei confronti dei numerosi pericoli provenienti dall'ambiente, questa reazione motoria debba essere elicitata da un'ampia gamma di stimoli. In effetti, lo startle può essere provocato utilizzando stimolazioni di diversa natura sensoriale: tattile (o meccanica), visiva o uditiva. La ricerca neurofisiologica (allo scopo anche di adattare l'utilizzo di questa risposta alle differenti esigenze sperimentali) ha approfondito le caratteristiche delle stimolazioni in grado di elicitare lo startle ed ha in seguito elaborato alcune metodologie altamente efficaci nell'elicitazione del riflesso.

Una prima serie di stimoli in grado di elicitare il riflesso è di natura tattile o cutanea. Questa modalità sensoriale è ritenuta essere da diversi autori la modalità più efficace per elicitare lo startle (Lissek, Baas, Pine, Orme, Dvir, Nugent, et al., 2005; Yeomans, et al., 2002). Facendo riferimento alla funzione adattiva dello startle non sorprende l'efficacia delle stimolazioni tattili nel provocare la risposta: il contatto improvviso con un predatore è infatti la fonte primaria di pericolo per una preda. Per elicitare la risposta servendosi di questa modalità sensoriale sono state elaborate, in particolare, tre metodologie principali. Un primo metodo prevede l'utilizzo di un breve ed intenso soffio di aria compressa nelle vicinanze dell'occhio; una seconda metodologia prevede la stimolazione elettrica della cute che ricopre la porzione sovraorbitale della branca oftalmica del nervo trigemino; una terza metodologia consiste nel percuotere con un breve colpo il viso nei pressi della glabella (l'area del volto compresa tra le sopracciglia) (Berg & Balaban, 1999; Balaban, 1996, Yeomans et al., 2002).

La conseguenza più evidente risultante dall'utilizzo di una stimolazione visiva è invece una rapida chiusura dell'occhio determinata dal riflesso di ammiccamento palpebrale, la prima componente della complessa risposta motoria che caratterizza lo startle. L'utilizzo di questa modalità difficilmente si associa infatti ad una reazione motoria completa (Yeomans et al., 2002). Per elicitarne il riflesso vengono solitamente utilizzati dei brevi flash di luce diretti negli occhi dei soggetti. Questa tecnica è diffusa in particolar modo nella pratica pediatrico-neurologica, laddove la corretta esecuzione del riflesso è indice di integrità del SNC dell'infante (Prechtl & Beintema, 1964).

L'utilizzo di stimoli uditivi è certamente la tecnica più utilizzata in letteratura per l'indagine dello startle (Balaban, 1996; Berg & Balaban, 1999; Yeomans & Frankland, 1996; Dawson, Schell, & Böhmelt, 1999). La risposta viene elicitata mediante stimoli acustici brevi, improvvisi e di una certa intensità. Negli studi pionieristici sulla risposta di startle condotti da Landis e Hunt (Hunt, Clarke, & Hunt, 1936; Hunt & Landis, 1938; Landis & Hunt, 1939), lo startle veniva provocato con uno sparo di pistola. Ovviamente, con il passare degli anni e con l'affinarsi delle conoscenze sullo startle sono state elaborate delle tecniche meno invasive per elicitarne il riflesso: solitamente oggi vengono utilizzati dei brevi picchi di rumore bianco con un'intensità superiore agli 80 dB (Berg & Balaban, 1999; Balaban, 1996; Fillion, Dawson, & Schell, 1993, 1998; Yeomans et al., 2002). L'utilizzo della modalità acustica si è diffuso innanzitutto poiché, rispetto alle tecniche precedentemente descritte, prevede una somministrazione degli stimoli relativamente semplice. Inoltre, l'utilizzo di stimoli acustici difficilmente interferisce con i compiti sperimentali richiesti al soggetto, che solitamente, per quanto riguarda la ricerca con la risposta di startle, prevedono la presentazione di immagini.

Sebbene lo startle possa essere provocato utilizzando diverse modalità sensoriali, gli stimoli devono possedere alcune proprietà fisiche essenziali per essere in grado di elicitarne la risposta. Le due proprietà ritenute centrali in letteratura (Blumenthal & Goode, 1991) per lo scaturire del riflesso, sono il carattere improvviso e l'intensità dello stimolo. Questi due parametri sono infatti in grado di influenzare l'intensità, la probabilità e la velocità di comparsa della risposta. Per quanto riguarda in particolare gli stimoli acustici, questi devono perciò essere caratterizzati da un tempo di ascesa (il tempo necessario allo stimolo per raggiungere il massimo della sua intensità) pressoché immediato e da un'intensità che superi gli 80 dB (Berg & Balaban, 1999). Lo startle è inoltre sensibile al fenomeno della sommazione degli stimoli. Somministrando, cioè, contemporaneamente due o più stimoli, lo startle risulta maggiore rispetto alla somministrazione di un singolo stimolo, ed, in particolare, l'intensità della risposta risulta proporzionale alla somma dell'intensità delle stimolazioni

(Yeomans et al., 2002). Tale effetto è ancor più accentuato se vengono utilizzati stimoli in modalità differenti (ad esempio acustica e cutanea). La sommazione intra-modale, in particolare, può essere assunta come prova del fatto che le informazioni provenienti dalle differenti modalità convergono in un unico centro comune responsabile della risposta.

#### *Fondamenti biologici: strutture neurali dello startle*

Come avviene per gran parte dei riflessi difensivi, la funzione protettiva dello startle è garantita primariamente da una breve latenza di comparsa e da una elevata velocità di esecuzione. Queste due proprietà dello startle sono consentite, come vedremo, dalla relativa semplicità e dalle caratteristiche strutturali dei circuiti neurali responsabili della risposta. In seguito alla somministrazione di uno stimolo acustico è possibile osservare le prime componenti della risposta (in particolare l'*eyeblink*) comparire all'incirca dopo 20-50 ms (nel ratto tale latenza si riduce ai 12 ms) (Berg & Balaban, 1999; Davis, 2006). Per evocare una risposta motoria che coinvolga tutto il corpo in così breve tempo, i circuiti neurali dello startle devono perciò essere caratterizzati da strutture in grado di trasportare rapidamente *input* in ogni modalità sensoriale e di trasmettere altrettanto rapidamente *output* ai diversi gruppi muscolari del corpo (Yeomans et al., 2002). La struttura fondamentale per la risposta di startle si trova nella formazione reticolare del ponte ventrocaudale (PnC): tale struttura è nota in letteratura come *Nucleus reticularis Pontis caudalis*. Una lesione a livello di questo nucleo blocca definitivamente ed irrimediabilmente l'esecuzione della risposta (Davis, 2006; Lang, 1995; Lang, Davis, & Ohman, 2000). Responsabili della risposta, in particolare, sono un gruppo di neuroni giganti del PnC (i neuroni caratterizzati dalle dimensioni maggiori rispetto a tutta la formazione reticolare) (Lingeholf & Friauf, 1994; Yeomans & Frankland, 1996). Si ritiene inoltre che i dati provenienti dalle stimolazioni ambientali vengano trasmessi al PnC da neuroni sensoriali di grandi dimensioni; la risposta è infatti mediata, nei diversi nuclei sensoriali, da assoni caratterizzati da un elevato diametro ed altamente mielinizzati. Responsabili dello startle acustico (*acoustic startle*) sono infatti un gruppo di neuroni di grandi dimensioni della radice della coclea. In seguito all'arrivo dell'informazione sensoriale, i neuroni giganti del PnC proietterebbero direttamente e indirettamente ai motoneuroni nel tronco e nel midollo spinale (Figura 3). Ogni neurone gigante è caratterizzato infatti da un assone di grandi dimensioni che si diramerebbe producendo migliaia di contatti terminali nei pressi di centinaia di motoneuroni ed interneuroni. Grazie alle caratteristiche di tali strutture neurali, la complessa risposta motoria di startle risulta organizzata in un esiguo numero di



sinapsi neurali, in grado di trasmettere rapidamente input di natura inter-modale e di diffondere, altrettanto rapidamente, output in gran parte dei muscoli del corpo.

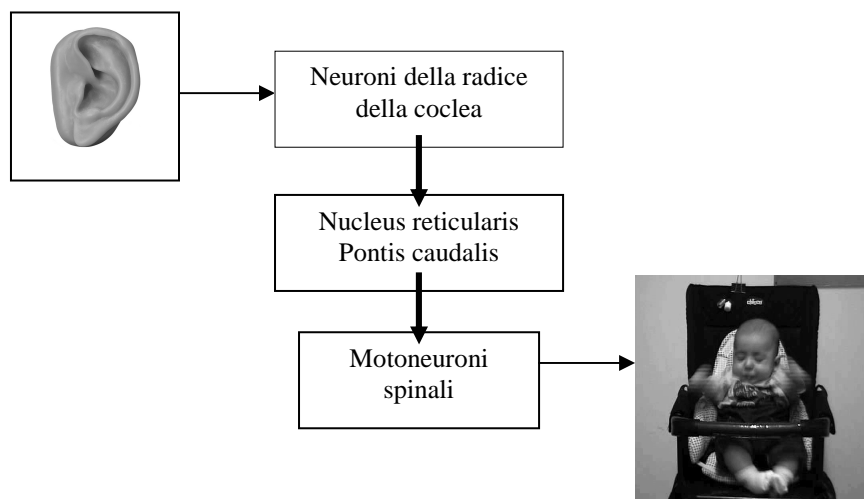


Figura 3. Rappresentazione schematica delle strutture neurali responsabili dello startle acustico.

#### *Metodologie misurative della risposta: da startle a blink*

L'utilizzo sperimentale di un indice fisiologico dipende in gran parte dalla possibilità di quantificare le sue caratteristiche fisiche adottando metodologie misurative la cui applicazione si riveli affidabile nel tempo. La letteratura si è concentrata ampiamente sulla quantificazione della risposta di startle, sviluppando negli anni numerose metodologie per la rilevazione delle sue caratteristiche principali. Per quanto concerne lo startle, si potrebbe persino affermare che l'esigenza misurativa della risposta si è rivelata fondamentale per la concezione stessa di startle presente in letteratura.

Nello studio della risposta nella specie umana, lo startle non viene infatti più considerato come la reazione risultante da un complesso pattern motorio. Piuttosto, adattando la rilevazione della complessa risposta motoria alle esigenze misurative proprie della ricerca sperimentale, lo startle viene scomposto e ridotto ad una sua componente in grado di essere finemente quantificata: l'ammiccamento palpebrale (*blink* o *eyeblick*) (Agnoli et al., 2007). Esso consiste nella contrazione del muscolo *orbicularis oculi* (un muscolo che ha fibre nella palpebra e attorno all'occhio) e nella reciproca inibizione del muscolo *levator palpebrae* (un muscolo deputato al sollevamento della palpebra) (Berg & Balaban, 1999; Ekman & Friesen, 1978). Il *blink* rappresenta una delle prime componenti motorie dello startle ad attivarsi in risposta ad uno stimolo intenso ed improvviso, esso infatti inizia a manifestarsi tra i 30 e i 70 ms dopo l'onset dello stimolo elicitante. In letteratura, perciò, il termine startle viene utilizzato spesso per riferirsi solamente allo *startle blink*.

Sono stati sviluppati diversi metodi per rilevare i movimenti della palpebra associati all'*eyeblick* (Anders, Weiskopf, Lule, & Birbaumer, 2004; Balaban, 1996; Lovelace, Elmore, & Filio, 2006). Certamente il metodo più frequentemente utilizzato è l'elettromiografia (EMG). Tale tecnica, mediante l'applicazione di due elettrodi in prossimità dell'orbita oculare (generalmente sotto la palpebra inferiore), registra i potenziali muscolari medi dell'*orbicularis oculi* (Blumenthal, Cuthbert, Fillion, Hackley, Lipp, & Van Boxtel, 2005). L'analisi di questa registrazione consente di ottenere numerose variabili quantitative in relazione all'intensità e alla velocità della risposta. Per quanto concerne l'intensità dello startle i parametri misurativi più utilizzati sono ampiezza e magnitudine della risposta. Per il calcolo dell'ampiezza, espressa in millivolt, si fa solitamente riferimento al picco di voltaggio massimo registrato all'interno della finestra temporale in cui è stata rilevata la risposta, oppure al primo picco rilevabile dopo l'*onset* della risposta (Berg & Balaban, 1999). Il termine magnitudine fa invece riferimento ad un calcolo dell'intensità della risposta in cui vengono tenuti in considerazione, oltre alle prove in cui è stato rilevato un valore di ampiezza, anche i casi in cui la risposta non è stata rilevata (Berg & Balaban, 1999; Meincke, Light, Geyer, & Braff, 2005). Un evento in cui non è stata rilevata una risposta di startle avrà perciò un valore di magnitudine uguale a 0, ma nessun valore associato all'ampiezza. La velocità dell'*eyeblick* viene invece misurata calcolando latenza e latenza al picco della risposta. La latenza corrisponde al tempo che intercorre tra la presentazione dello stimolo elicitante e l'inizio sul tracciato elettromiografico del fenomeno (in questo caso si utilizza anche il termine *onset latency*). La latenza al picco invece viene calcolata misurando il tempo che intercorre tra la presentazione dello stimolo elicitante e l'apice del picco di voltaggio del riflesso (Berg & Balaban, 1999). Un altro parametro misurativo utilizzato, seppur meno frequentemente, nella rilevazione dell'*eyeblick* è la probabilità di risposta.

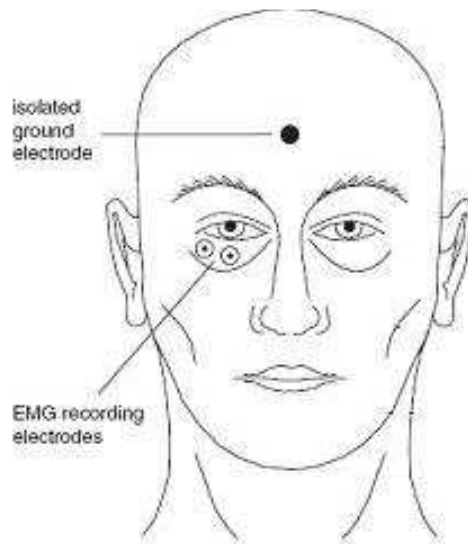


Figura 4. Posizionamento degli elettrodi elettromiografici sulla porzione orbitale inferiore del muscolo *orbicularis oculi* per la rilevazione dell'*eyeblink*. Un ulteriore elettrodo isolato (chiamato di terra) viene posizionato sulla fronte (adattata da Blumenthal, T. D., Cuthbert, B. N., Filion, D. L., Hackley, S., Lipp, O. V., & Van Boxtel, A., *Psychophysiology*, 2005, 42, 1-15).

Per la misurazione del *blink* possono essere inoltre utilizzate alcune tecniche microanalitiche basate sulla videoregistrazione del volto, per esempio le metodologie messe a punto per la codifica del comportamento facciale come il FACS di Ekman (Ekman & Friesen, 1978; Ekman, Friesen, & Hager, 2002) o la scala di valutazione proposta da Essex (Essex, Goldsmith, Smider, Dolsky, Sutton, & Davison, 2003). Tuttavia, sono pochi i lavori pubblicati (Ekman, Friesen, & Simons, 1985; Essex et al., 2003) e la tecnica elettromiografica risulta ancora oggi di gran lunga preferita dai ricercatori (Agnoli et al., 2007).

Pur partendo da una definizione globale della risposta e facendo riferimento alla funzione difensiva rivestita dallo startle, la ricerca (in particolare quella psicologica) si è concentrata, quindi, su una sola componente, il riflesso di ammiccamento (*blink*). Questa scelta, data la complessità della risposta motoria che caratterizza lo startle, appare riduttiva, tuttavia essa è sostenuta da validi motivi di natura metodologica. Il riflesso di ammiccamento è infatti relativamente semplice da registrare nell'adulto e costituisce una delle componenti motorie della risposta di startle più resistenti all'abituazione. Questa caratteristica ha portato gli studiosi a ritenere l'ammiccamento palpebrale uno tra gli indici più stabili ed affidabili per la misurazione dello startle (Blumenthal et al., 2005; Lang, 1995). Inoltre, questa soluzione metodologica ha mostrato la sua concreta efficacia consentendo il raggiungimento di risultati molto importanti nello studio delle emozioni (Cuthbert, Bradley, & Lang, 1996; Filion, Dawson, & Shell, 1998; Gard, Germans Gard, Mehta, Kring, & Patrick, 2007; Grillon, 2008; Lang, 1995; Lissek, Orme, McDowell, Johnson, Luckenbaugh, Baas, et al., 2007; McManis,

Bradley, Berg, Cuthbert, & Lang, 2001; Springer, Rosas, McGetrick, & Bowers, 2007), nello studio dell'attenzione (Ashare, Hawk, & Mazzullo, 2007; Balaban, 1996; Fillion, Dawson, & Shell, 1993; Lang, Simons, & Balaban, 1997; Ornitz, 1999) e più in generale nella ricerca psicofisiologica (Davis, 1984; Davis, Hichcock, & Rosen, 1987; Dawson, Schell, & Böhmelt, 1999; Kettle, Andrewes, & Allen, 2006; Lang et al., 2000; Ornitz, Russell, Yuan, & Liu, 1996; McDowell, Brown, Lazar, Camchong, Sharp, Krebs-Thomson, et al., 2006). Come vedremo nel corso di questo capitolo, tuttavia, questi vantaggi si riducono sensibilmente nella ricerca sullo sviluppo, la quale deve invece fare i conti con l'invasività, per quanto moderata, e l'intrusività che caratterizzano la registrazione elettromiografica, in particolare nei primi mesi di vita.

### **La scoperta della modificabilità della risposta di startle**

Dopo aver analizzato le caratteristiche funzionali e strutturali, ed aver approfondito le modalità sviluppate per elicitare e misurare la risposta di startle, rimangono ora da chiarire i motivi che hanno spinto la ricerca neuroscientifica ad attribuire tale importanza allo studio di un "semplice riflesso". Lo startle, come si è anticipato all'inizio del capitolo, può essere modificato da diversi fenomeni, tuttavia la ricerca si è concentrata principalmente sulle modificazioni della risposta indotta da fenomeni di natura attentiva e fenomeni di natura emozionale. La ricerca ha quindi scoperto le condizioni che consentono di modulare, potenziandola o inibendola, la risposta di startle e se ne è servita come indice, marcatore o *probe* (sonda) per inferire attività cognitive, motivazionali o emozionali non direttamente osservabili. In psicologia, in particolare, la risposta di startle viene utilizzata come indice dei cambiamenti di tipo psicofisiologico le cui fluttuazioni dipendono da attività psicologiche, come i processi cognitivi o le emozioni.

Già nel 1863 Sechenov (Sechenov, 1863/1965) descriveva un fenomeno secondo cui i riflessi potevano essere ampiamente modificati da cambiamenti che avvenivano nell'ambiente sensoriale. Contrariamente a quanto si credeva, infatti, i riflessi non sono reazioni stereotipate e invariante, ma piuttosto sono altamente modificabili da una varietà di eventi ambientali, e quindi di condizioni psicofisiche, che precedono o che si verificano simultaneamente alla loro elicitazione (Ison & Hoffman, 1983). È però solo a partire dagli anni '70 del secolo successivo sotto la spinta dei lavori condotti da studiosi come Graham e Davis (Davis & Astrachan, 1978; Graham, 1975), che l'indagine della modificazione della risposta di startle ha subito un incremento esponenziale (Fillion et al., 1998). Graham, in particolare, sosteneva che la modificazione dello startle poteva essere considerata un importante strumento per la

comprensione dei meccanismi sottostanti al processamento delle informazioni, specialmente in soggetti in cui tali processi risultano per lo più inaccessibili (Graham, 1975). Tale affermazione ha trovato un ampio riscontro nell'indagine dei processi attentivi ed emozionali degli animali e degli esseri umani adulti, ma attende ancora, come vedremo nel prosieguo del capitolo, una conferma per quanto riguarda l'indagine della primissima infanzia, laddove tali fenomeni sono ancora oggi di difficile accesso.

Nello specifico per modificazione dello startle, si fa riferimento ai cambiamenti nell'ampiezza e/o nella latenza di risposta che si verificano quando lo stimolo elicitante il riflesso è preceduto o accompagnato da un altro stimolo, detto pre-stimolo, presentato secondo varie modalità (Dawson et al., 1999). Oggi sappiamo (Dawson et al., 1999) che la direzione della modificazione dello startle, cioè la sua inibizione vs. facilitazione, dipende in larga parte dall'intervallo temporale (*lead interval*) che intercorre tra l'onset del pre-stimolo (*lead stimulus*) e l'onset dello stimolo in grado di elicitare il riflesso (*startle stimulus*). In particolare, più breve è tale intervallo (*short lead interval*), cioè tra i 30 e i 240 ms., maggiore sarà l'inibizione del riflesso. Al contrario, la presentazione continua e prolungata di un pre-stimolo il cui *onset* si trova tra i 500 ms. e i 2 sec. (*long lead interval*) dallo *startle stimulus*, determina una facilitazione della risposta (Filion et al., 1993, 1998). Il fenomeno che caratterizza l'inibizione dello startle a causa della presentazione di un pre-stimolo è conosciuto nella letteratura internazionale come *prepulse inhibition (PPI)* (Figura 5), mentre la facilitazione indotta da una pre-stimolazione è conosciuta come *prepulse facilitation* (Hoffman, 1997).

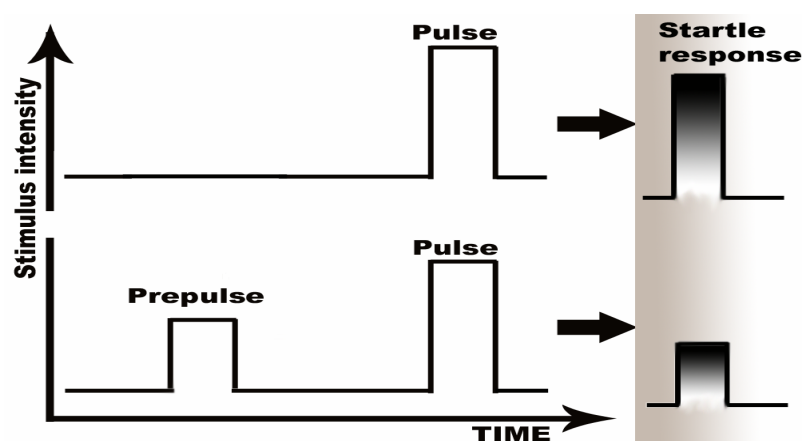


Figura 5. Rappresentazione schematica del fenomeno della *prepulse inhibition*. La risposta di startle risulta inibita se precedentemente allo *startle stimulus (pulse)* viene presentato un breve stimolo (*prepulse*) ad un'intensità inferiore.

L'inibizione e il potenziamento della risposta di startle sono generalmente spiegati sulla base di meccanismi di natura attentiva e/o attivazionale, estrinseci al riflesso (Ornitz, 1999). Per esempio, la *prepulse inhibition* sarebbe il risultato di meccanismi pre-attentivi attivati dal pre-stimolo deputati a garantire un'analisi percettiva completa, escludendo l'interferenza di qualsiasi altra stimolazione troppo ravvicinata nel tempo (Graham, 1975; Graham, 1992; Graham & Hackley, 1991). Altri fenomeni invece, come l'abituazione o la refrattarietà a stimolazioni troppo ravvicinate tra loro, vengono solitamente spiegati chiamando in causa meccanismi sensoriali intrinseci al riflesso (Ornitz, 1999). Gli effetti derivati da una pre-stimolazione sulla risposta di startle sono stati largamente utilizzati nello studio dell'attenzione negli adulti e negli animali (Balaban, 1996; Filion et al., 1993; Filion et al., 1998; Winslow et al., 2002). Al contrario, la ricerca psicologica sullo sviluppo umano raramente ha indagato tali fenomeni, se non per mostrare come essi richiedano un lungo percorso evolutivo prima di manifestarsi nella loro forma adulta. Studi condotti principalmente nel corso degli anni Ottanta hanno dimostrato, per esempio, come sia la *prepulse inhibition* sia la *prepulse facilitation* maturino completamente solo a partire dagli 8 anni d'età (Anday, Cohen, Kelley, & Hoffman, 1989; Graham, Strock, & Zeigler, 1981; Hoffman, Cohen, & Anday, 1987; Ornitz, Guthrie, Kaplan, Lane, & Norman, 1986). Naturalmente sarebbe necessario comprendere più approfonditamente le traiettorie evolutive di tali fenomeni. La ricerca negli ultimi 20 anni ha infatti dimostrato come questi fenomeni siano caratterizzati da una complessità molto più elevata di quanto si credesse in precedenza. L'inibizione e la facilitazione dello startle non possono essere infatti spiegati solamente sulla base delle caratteristiche fisiche e temporali del *lead stimulus*. Studi condotti sulla *prepulse inhibition* (certamente uno dei fenomeni maggiormente studiati per quanto concerne la modificazione della risposta di startle) hanno dimostrato, ad esempio, come l'inibizione non rifletta solamente l'attività di meccanismi pre-attentivi di tipo automatico, ma possa rappresentare anche l'indice di un precoce processamento attentivo del pre-stimolo (Filion et al., 1993, 1998). Allo stesso modo, come vedremo nei prossimi paragrafi, anche la facilitazione della risposta è risultata essere un epifenomeno determinato da una serie di stimoli o condizioni decisamente eterogenee.

#### *La modulazione affettiva della risposta di startle*

Il fenomeno modulatorio grazie al quale è stata svelata la potenzialità della risposta di startle quale importante marcatore biologico nello studio delle emozioni è un effetto facilitatorio conseguente al condizionamento di una risposta di paura. Il potenziamento in

ampiezza dello startle in conseguenza alla presentazione di uno stimolo o evento inducente paura è conosciuto come *fear-potentiated startle*, o startle potenziato dalla paura. Tale fenomeno è utilizzato in letteratura come una misura operativa dell'emozione di paura (Agnoli, Dondi, Franchin, & Stoppa, in corso di stampa). Il paradigma sperimentale grazie al quale viene tuttora studiato questo fenomeno risale ai primi anni '50 (Brown, Kalish, & Farber, 1951) e prevede il condizionamento di una risposta di paura. Il condizionamento viene indotto sperimentalmente (di solito in un ratto) mediante l'associazione di uno stimolo neutro (ad esempio un led luminoso o un breve suono) ad uno stimolo aversivo, solitamente una scossa elettrica. Come conseguenza di questa associazione, la risposta di startle elicitata durante la presenza dello stimolo condizionato risulta caratterizzata da un'ampiezza maggiore rispetto alla risposta elicitata in assenza dello stimolo (Figura 6). Grazie all'utilizzo di questo paradigma sperimentale Michael Davis, a partire dagli anni '70 (Davis, 1984; Davis & Astrachan, 1978; Davis, Gendelman, Tischler, & Gendelman, 1982; Davis et al., 1987; Davis, Yang, Shi, Zhao, 2004), è riuscito a rintracciare le strutture neurali responsabili del fenomeno, portando un fondamentale contributo alla comprensione del substrato neurale alla base dell'emozione di paura. Mediante l'ablazione e la lesione sistematica di strutture e vie neurali, l'iniezione di traccianti chimici, la somministrazione di sostanze per l'accentuazione o la soppressione del fenomeno, questo studioso ha tracciato le vie neurali responsabili del riflesso e responsabili della sua modificazione. Sebbene queste ricerche siano state condotte prevalentemente sui ratti, il fenomeno del *fear-potentiated startle* è stato dimostrato ed approfondito anche negli esseri umani, tanto da essere ritenuto ad oggi uno degli indici più affidabili nell'indagine dell'emozione di paura (Davis, 2006; LeDoux, 1996).

Sotto la spinta dei grandi risultati ottenuti nello studio di soggetti adulti e grazie alla messa a punto di alcuni paradigmi sperimentali da parte di studiosi quali Davis e Peter Lang, per quanto riguarda lo studio delle emozioni (Davis, 1984; Davis et al., 1987; Davis, 2006; Lang, 1995; Lang & Davis, 2006; Lang, Greenwald, Bradley, & Hamm, 1993; Lang et al., 2000), nonché di Frances Graham, per quanto riguarda lo studio dell'attenzione (Anthony & Graham, 1983, 1985; Graham, 1997), l'interesse dei ricercatori si è rivolto recentemente all'approfondimento di due fenomeni conosciuti in letteratura come *modulazione affettiva* e *modulazione attentiva* della risposta di startle. Anche l'indagine di questi fenomeni è basata sulla presentazione di un pre-stimolo, ma in questo caso si tratta di stimoli molto più complessi di quelli utilizzati nella tradizione di ricerca sugli effetti di una pre-stimolazione o *pre-pulse*. Essi sono infatti in grado di chiamare in causa, in modo chiaro e riproducibile, alcuni processi di natura motivazionale, emozionale ed attentiva.

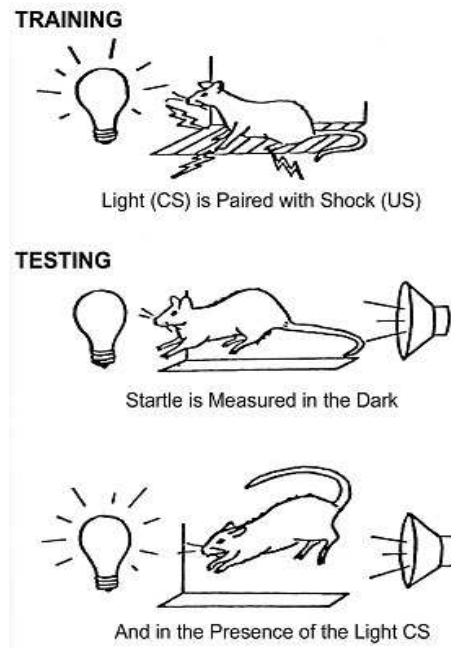


Figura 6 . Rappresentazione del fenomeno della *fear-potentiated startle* in un ratto. In seguito ad una fase di training in cui viene associato uno stimolo neutro (luce) ad uno stimolo aversivo (scossa elettrica), si può osservare come la risposta di startle elicitata durante la presenza dello stimolo condizionato risulti caratterizzata da un'ampiezza maggiore rispetto alla risposta elicitata in assenza dello stimolo (da M. Davis, 1992, *Trends in pharmacological sciences*, 13, 35-41).

Come l'utilizzo della risposta di startle si trova alla base degli importanti risultati ottenuti da Davis, in particolare sui ratti, nello studio della paura, la registrazione elettromiografica del *blink*, e più in generale la risposta di startle, hanno assunto, nello studio degli esseri umani adulti, un ruolo centrale nella teoria di Lang sulle emozioni (Lang, 1995). A questo studioso e alla produttività del suo gruppo di ricerca si deve infatti la grande popolarità e diffusione del paradigma sperimentale conosciuto come *startle probe paradigm* (Bradley, Codispoti, Cuthbert, & Lang, 2001; Bradley, Codispoti, & Lang, 2006; Bradley, Cuthbert, & Lang, 1993; Codispoti, Bradley, & Lang, 2001; Cuthbert et al., 1996; Lang, 1995). Lang ed i suoi collaboratori (Bradley et al., 1993; Cuthbert et al., 1996; Lang, Bradley, & Cuthbert, 1998), in particolare, hanno proposto che le emozioni riflettano l'attivazione di strutture e vie neurali relativamente a due sistemi motivazionali: il sistema motivazionale appetitivo (a cui sono collegati comportamenti d'alimentazione, sessuali e di cura della prole) e il sistema motivazionale aversivo (a cui sono collegati comportamenti protettivi, di fuga e di difesa). Secondo Lang (1995) le associazioni, le rappresentazioni e i programmi d'azione che sono collegati al sistema motivazionale attivato (per esempio quello aversivo) avrebbero una più alta probabilità d'accesso (per esempio i comportamenti di fuga ed evitamento); al



contrario, gli eventi mentali e i programmi motori collegati al sistema non attivato (per esempio i comportamenti legati alla sessualità) avrebbero una probabilità di manifestarsi e una forza d'attivazione minori.

Questa ipotesi è nota in letteratura come *Motivational Priming Hypothesis* (Lang, 1995; Lang et al., 1998; Lang et al., 2000) e si fonda prevalentemente su dati che hanno mostrato il ruolo modulatore delle emozioni sul riflesso di ammiccamento palpebrale. Lang (1995), infatti, ha messo in evidenza come questa sorta di *priming* motivazionale, che egli assume investa pensieri, percezioni ed azioni, sia facilmente evidenziabile a livello primitivo nei riflessi incondizionati. Essendo la risposta di startle un riflesso difensivo, deputato cioè ad assolvere una funzione protettiva degli organi di senso, Lang e i suoi collaboratori hanno prima ipotizzato e poi dimostrato ripetutamente (Lang, 1995; Lang et al., 1998; Lang et al., 2000) che esso si manifesta più rapidamente, cioè con una latenza minore e con maggiore intensità, quando il sistema motivazionale aversivo è attivato (come in uno stato di paura o, più in generale, quando lo stato emotivo è caratterizzato da tono edonico negativo), mentre risulta inibito oppure ridotto in ampiezza quando è attivato il sistema appetitivo (quando cioè lo stato emotivo è caratterizzato da tono edonico positivo). Riflettendo brevemente sul ruolo adattivo rivestito dalla modulazione del comportamento difensivo di startle, sembrerebbe funzionale alla sopravvivenza di un individuo il fatto che le sue difese siano maggiormente attive (o attivate) nel momento in cui egli sia disposto negativamente verso l'ambiente, come nel caso in cui si trovi in una situazione di potenziale pericolo (si pensi ad esempio alla situazione in cui ci si trovi improvvisamente al buio: i nostri sensi vengono immediatamente acuiti e si sobbalza al minimo rumore). Allo stesso modo sembrerebbe funzionale il fatto che le nostre difese vengano momentaneamente inibite nel momento in cui si sia disposti positivamente verso l'ambiente; in tal caso risulterebbe più funzionale attivare comportamenti finalizzati al proseguo di tale interazione positiva (si pensi al caso in cui improvvisamente al buio ci si trovi con una persona verso la quale si provi una "spiccata attrazione" e questa sia corrisposta: certamente, in tale situazione, il comportamento più "funzionale" non risulterebbe il sobbalzare al minimo rumore). L'utilizzo sperimentale dello startle prevede perciò l'adozione di un paradigma grazie al quale lo startle viene utilizzato come *probe*, o marcatore, in grado di rivelare lo stato emozionale negativo o positivo (a cui sottendono, secondo Lang, uno stato motivazionale aversivo o appetitivo) in cui si trova un individuo.

Per indurre uno stato emozionale nei soggetti, o più precisamente per attivare uno dei due sistemi motivazionali ipotizzati da Lang (1995), gli studiosi che fanno riferimento a questo paradigma, hanno utilizzato generalmente un set standardizzato di immagini (paesaggi,

nudi, mutilazioni, operazioni chirurgiche, etc.) classificate, in relazione al loro contenuto, secondo la valenza affettiva (piacevole vs. spiacevole) ed il loro carattere attivante (molto vs. poco). Lang, in particolare, ha elaborato un set standardizzato di diapositive, denominato *International Affective Picture System* (IAPS), contenente quasi 1000 immagini, ognuna delle quali è stata valutata e classificata in base a valenza ed *arousal* (Lang, 1995). Per le valutazioni delle immagini, inoltre, Lang ha ideato il *Self-Assessment Manikin* (Lang & Bradley, 1994), una scala a 9 punti, dove valenza ed *arousal* sono rappresentati graficamente dai cambiamenti di espressione di un fumetto. A seconda della posizione che ciascuna di queste immagini occupa all'interno di tale classificazione, è stato possibile dimostrare in numerosi esperimenti che la risposta di startle variava in latenza ed ampiezza. Un altro fattore centrale nella modulazione della risposta di startle è, infatti, il livello di *arousal* dell'organismo. Cuthbert e coll. (1996) hanno dimostrato, per esempio, che alla somministrazione di stimoli poco attivanti (come un'immagine raffigurante un cestino) non corrispondeva alcuna modulazione della risposta, indipendentemente dalla valenza emotiva degli stessi. Valenza ed *arousal*, quindi, agendo in sinergia, determinano quel fenomeno conosciuto come modulazione affettiva della risposta di startle (Figura 7).

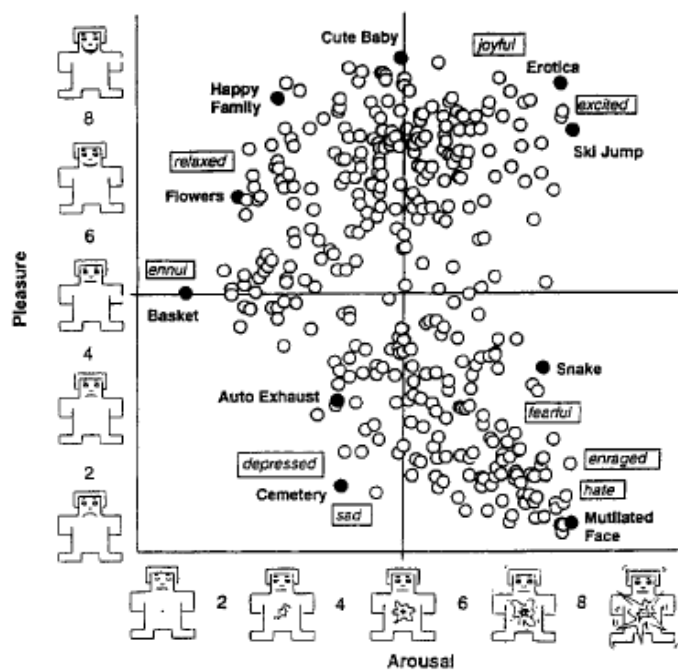


Figura 7. Distribuzione delle immagini dell'*International Affective Picture System* (IAPS) sulle due dimensioni della valenza affettiva (*pleasure*) e dell'*arousal*. Per la valutazione delle immagini è stato utilizzato il *Self-Assessment Manikin*, un pupazzo rappresentato in diverse varianti sulla base del grado di attivazione (da basso ad alto) e della valenza affettiva (da positiva a negativa) (da P. Lang, 1995, *American Psychologist*, 50, p. 374).

Il modello teorico proposto da Lang non è totalmente estraneo al panorama teorico relativo alle emozioni, ma rientra all'interno di un approccio dimensionale allo studio del comportamento affettivo (Russell, 1979, 1980, 2003; Watson, Wiese, Vaidya, & Tellegen, 1999; Watson & Tellegen, 1985). Secondo questo approccio teorico il comportamento affettivo (*affect*<sup>1</sup>) sarebbe strutturato secondo alcune dimensioni di base. Sebbene alcuni modelli inizialmente teorizzassero la presenza di tre dimensioni principali (si veda ad es. Engen, Levy, & Schlosberg, 1958), attualmente i ricercatori convergono su una struttura bidimensionale dell'*affect* (Russell, 2003; Watson et al., 1999). Nello specifico, approfondite indagini condotte sulle espressioni facciali e vocali delle emozioni, sugli indici psicofisiologici, sui giudizi relativi alla somiglianza di parole connotate affettivamente, sul differenziale semantico di termini affettivi (Watson et al., 1999), hanno suggerito l'esistenza di una strutturazione dell'*affect* secondo due dimensioni generali: 1) Piacevolezza versus Spiacevolezza; 2) Attivazione (o *Arousal*). Sebbene la struttura bidimensionale del “mondo affettivo” sembri essere una nozione quasi universalmente condivisa, altrettanto non si può dire rispetto alle modalità in cui le due dimensioni interagiscano nel generare l'alta variabilità che si può ritrovare in questo mondo. Secondo alcuni autori (tra cui anche Lang) le due dimensioni possono essere rappresentate geometricamente con due assi posti ortogonalmente (vedi Figura 7). Un asse verticale rappresenterebbe la valenza affettiva, da positiva a negativa, e l'altro asse, posto orizzontalmente, rappresenterebbe l'*arousal*, da alto a basso. Un comportamento affettivo potrebbe perciò essere categorizzato sulla base della posizione che questo occupa sul *continuum* della valenza affettiva e sul *continuum* dell'*arousal*, esattamente come ha fatto Lang nella categorizzazione delle immagini dello IAPS. Una differente concettualizzazione del rapporto tra le due dimensioni principali dell'*affect* vede i due assi ruotati di 45° rispetto a quelli della valenza e dell'*arousal*, per descrivere lo spazio affettivo con le dimensioni del *Positive Affect* (PA) e del *Negative Affect* (NA) (Burgdoff & Panksepp, 2006; Watson et al., 1999; Witvliet & Vrana, 1995). Secondo tale modello, proposto da Watson e Tellegen nel 1985 (quale variante del modello proposto da Russell nel 1980), la dimensione del *Positive Affect* e la dimensione del *Negative Affect* sarebbero dimensioni

---

<sup>1</sup> La traduzione italiana del termine “*affect*” risulta decisamente difficoltosa. Il termine italiano “affetto” ha infatti un'accezione differente rispetto al termine inglese *affect*, che designa, a seconda della sua utilizzazione, vari aspetti del complesso fenomeno emozionale. L'utilizzo di questo termine nella lingua inglese non è infatti univoco. Secondo Plutchik (1994), in particolare, il termine *affect* viene utilizzato per indicare fenomeni emozionali differenti, sebbene il suo significato sia da ricollegarsi principalmente ad una tradizione psicoanalitica secondo cui il termine *affect* indicherebbe la qualità edonica (positiva o negativa) di uno stato emozionale. Quando si parlerà di *affect*, perciò, si cercherà di utilizzare la terminologia italiana che maggiormente si avvicina al significato con cui il termine è stato utilizzato dall'autore di riferimento, oppure, più semplicemente, si utilizzerà il termine inglese.

ortogonali indipendenti (Heponiemi, Ravaja, Elovainio, Naatanen, & Keltikangas-Jarvinen, 2006; Watson et al., 1999). Questo modello prevede inoltre che queste due dimensioni formino una struttura circomplessa, cioè un modello in cui i descrittori fondamentali del mondo affettivo possano essere posizionati sistematicamente attorno al perimetro di un cerchio posto attorno ai due assi (Heponiemi et al., 2006; Watson & Tellegen, 1985).

L'ampia mole di dati a conferma di una struttura bidimensionale dello spazio affettivo, ha portato ad interrogarsi sull'origine di tale struttura. L'analisi delle funzioni di base e del significato evolutivo di tali dimensioni hanno portato numerosi autori (tra cui, come abbiamo visto anche Peter Lang) a credere che l'*affect* sia il risultato dell'attività di sistemi biocomportamentali di base (Watson et al., 1999). In particolare la fluttuazione in queste dimensioni rifletterebbe l'opera di due sistemi motivazionali che, attraverso una lunga evoluzione, medierebbero l'uno comportamenti diretti all'approccio e l'altro comportamenti diretti all'evitamento (Schneirla, 1959). Rifacendosi perciò a questi modelli teorici, Lang ha formulato un'ipotesi (la *Motivational Priming Hypothesis*) che, a partire da una più generale interpretazione del mondo affettivo, riesce a spiegare, secondo l'autore, il complesso comportamento emozionale dell'essere umano, grazie, in particolare, ai dati derivanti dalla modulazione affettiva di un semplice riflesso, lo startle.

#### *Strutture modulatorie: strutture neurali responsabili della modificazione dello startle*

L'approfondita indagine neurologica della modificazione della risposta di startle ha consentito, negli ultimi anni, di comprendere con maggiore accuratezza le funzioni ed il funzionamento di alcune strutture neurali ritenute fondamentali per il comportamento emozionale. La struttura neurale su cui maggiormente si è concentrato lo studio sulla modificazione della risposta è il *Nucleus reticularis Pontis caudalis*. Tale struttura, come è stato specificato in parte anche in precedenza, è l'elemento chiave del circuito neurale primario dello startle, sia perché media la risposta, sia perché è la struttura a cui giungono gli input di tipo modulatorio provenienti da diverse zone cerebrali (Koch, 1999).

In particolar modo il potenziamento della risposta di startle è stato oggetto di molteplici indagini. Numerosi sono infatti gli stimoli o gli eventi che possono determinare un aumento della risposta, e, di conseguenza, numerose sono anche le strutture neurali che possono mediare questo effetto. Lo startle può essere potenziato attraverso il condizionamento di un'emozione di paura (Davis, 2006), attraverso una prolungata esposizione ad una luce intensa nel ratto (Walker and Davis, 1997) o una prolungata esposizione al buio nell'essere umano (Grillon & Baas, 2003), attraverso la lesione o la stimolazione di alcune aree cerebrali

(Koch, 1999), oppure attraverso l'applicazione sistemica o intracerebrale di una serie di droghe (Davis, 1980). Sebbene lo studio dei fondamenti neurali delle differenti forme di potenziamento della risposta siano stati approfonditi soprattutto nei ratti, si assume che anche negli esseri umani questo fenomeno sia mediato da meccanismi cerebrali simili (Angrilli, Mauri, Palomba, Flor, Birbaumer, Sartori, et al., 1996; Lang, 1995).

Nonostante l'eterogeneità dei fenomeni in grado di potenziare lo startle, è una struttura, in particolare, che viene ritenuta essere il centro neurale fondamentale per la modulazione della risposta: il complesso amigdaloideo. Sebbene diversi siano i nuclei neurali responsabili dei fenomeni caratterizzati da un aumento della risposta di startle (si pensi ad esempio al *bed nucleus della stria terminalis*, nucleo fondamentale nel determinare il potenziamento della risposta in seguito ad uno stato d'ansia; Davis et al., 1986), la maggior parte di essi forma sinapsi con l'amigdala, che, direttamente o indirettamente, ne media il segnale. Gran parte del merito nell'aver marcato e scoperto l'importanza del ruolo dell'amigdala nella modificazione della risposta di startle è da attribuirsi allo studio del *fear-potentiated startle*. E' stato infatti dimostrato che il complesso amigdaloideo riveste un ruolo fondamentale nell'acquisizione e nell'espressione della paura condizionata (Davis, 2006). Lesioni del nucleo centrale o basolaterale dell'amigdala bloccano infatti l'espressione della paura nel paradigma del *fear-potentiated startle* (Davis et al., 1993). L'associazione tra lo stimolo neutro e lo stimolo aversivo avviene infatti nei nuclei laterale e basolaterale dell'amigdala dove convergono sia gli input provenienti da regioni sensoriali della corteccia e del talamo sia input provenienti da nuclei nocicettivi del cervello e dai nuclei talamici posteriori intralaminari (Koch, 1999). Il nucleo centrale dell'amigdala trasmetterebbe in seguito l'associazione al *Nucleus reticularis Pontis caudalis*<sup>2</sup>.

Per quanto concerne l'inibizione o attenuazione della risposta di startle le conoscenze dei substrati neurali che mediano tale fenomeno sono ancora ad uno stato primitivo se confrontate con la precisa mappatura dei centri neurali coinvolti nel potenziamento della risposta. Tale lacuna può essere imputata a diversi fattori, tra i quali il più evidente è legato al fatto che il potenziamento della risposta è un fenomeno più stabile ed intenso rispetto all'inibizione (Grillon & Baas, 2003), ed è inoltre più facilmente riproducibile e di conseguenza indagabile. È infatti ancora poco chiaro come le aree cerebrali coinvolte nel

---

<sup>2</sup> Le connessioni tra i nuclei del complesso *network* responsabile della modificazione della risposta di startle hanno una natura decisamente più complessa di quanto specificato in questo paragrafo, che si prefigge l'obiettivo di offrire una panoramica generale delle strutture neurali principali responsabili del fenomeno. La trasmissione neurale è infatti coadiuvata dalla secrezione di numerosi ormoni o neurotrasmettitori (colecistochina, corticotropina, dopamina, noradrenalina, etc.) coinvolti nella trasmissione di informazioni di diversa natura (si veda ad es. Davis, 2006; Koch, 1999).

processamento di emozioni positive interagiscano con il circuito neurale primario dello startle. Ad oggi infatti si conosce solamente che parte del circuito neurale esistente tra *nucleus accumbens* e *globus pallidus* (che governa comportamenti legati alla ricompensa) sia importante per la riduzione della risposta di startle in presenza di uno stimolo che predica una ricompensa (Koch, 1999).

#### *La modulazione attentiva della risposta di startle*

Lo studio della modificazione dello startle conseguente all'azione dei processi attentivi, come si è visto nel caso della *pre-pulse inhibition*, è oggetto d'indagine sin dagli anni '70 (Graham, 1975). A partire da allora si sono moltiplicati gli studi che hanno approfondito l'utilizzo dello startle come misura operativa dello stato attentivo e del processamento attentivo di un individuo. Come è successo nello studio dei processi affettivi, anche gli studiosi dell'attenzione si sono infatti serviti delle caratteristiche modulatorie proprie dello startle per indagare alcuni aspetti del sistema attentivo e, in particolare, per mettere in evidenza l'influenza esercitata dai processi cognitivi sulle attività di natura riflessa. È stato scoperto, infatti, nell'adulto, e confermato ripetutamente anche nelle prime fasi dello sviluppo, che latenza ed ampiezza del *blink* sono modulate dalle diverse condizioni attentive in cui si trova l'organismo (Anthony & Graham, 1983, 1985; Balaban, 1996; Richards, 1998, 2000). In particolare, l'ampiezza del *blink* risulta potenziata quando l'attenzione è focalizzata e quando la modalità sensoriale, acustica o visiva, dello stimolo oggetto di attenzione e dello stimolo elicitante lo startle sono congruenti (per esempio un brano musicale di sottofondo e un picco di rumore bianco, oppure uno stimolo visivo e un flash di luce abbagliante). Questa particolare modulazione attentiva del *blink*, scoperta grazie al paradigma sperimentale messo a punto da Anthony e Graham (1983, 1985), viene ritenuta la dimostrazione che l'attenzione può essere selettiva nei confronti delle diverse modalità sensoriali, e quindi la dimostrazione che esistono sistemi attentivi modalità-specifici sostenuti da strutture e percorsi neurali diversi (Richards, 1998, 2000).

#### **La risposta di startle nell'indagine sulle prime fasi dello sviluppo**

Da quanto detto sin d'ora, si può quindi evincere che l'importanza attribuita dalla ricerca neuroscientifica allo studio della risposta di startle può essere ricondotta ai numerosi vantaggi che lo startle offre quale misura psicofisiologica nell'indagine dei processi emozionali e attentivi. Uno dei fattori primari del diffuso utilizzo sperimentale della risposta è certamente il fatto che lo startle rappresenta una risposta fisiologica altamente manipolabile.

La plasticità della risposta di startle ha offerto infatti ai ricercatori l'opportunità di utilizzare semplici paradigmi facilmente controllabili per studiare vari processi sensoriali, attentivi ed emozionali ed i meccanismi neurobiologici ad essi correlati. La natura riflessa della risposta rende inoltre lo startle invulnerabile sia a controlli intenzionali (Ekman et al., 1985) sia ad errori nell'esecuzione della risposta. Oltre a ciò, la risposta di startle è presente sin dalla nascita e non richiede, per la sua esecuzione, nessun compito motorio di tipo volontario né alcun requisito specifico dei partecipanti, una condizione spesso rilevante nell'indagine psicologica e di particolare significato nella ricerca sullo sviluppo, specialmente nei primi mesi di vita.

Sebbene lo studio dei processi attentivi sia un ambito primario d'indagine nella ricerca sulla risposta di startle, è soprattutto la ricerca sulle emozioni che ha tratto vantaggi dall'utilizzo di questo marcatore biologico. Una delle caratteristiche principali della risposta di startle modulata dallo stato emozionale di un individuo è il fatto di presentarsi sempre con un tempo di latenza assai breve (dai 20 ai 40 ms) in seguito alla presentazione dello stimolo elicitante. Tale fatto implica che, a dispetto di molte altre reazioni di tipo emotivo (ad esempio le espressioni facciali), la modulazione affettiva della risposta di startle non sia legata a nessun meccanismo di tipo cosciente o intenzionale, né possa essere ricondotta ad una comunicazione socio affettiva (Bradley et al., 1999). La nozione che la risposta di startle possa rivelare la valenza affettiva di uno stato affettivo o di uno stato motivazionale di un individuo risulta particolarmente attraente per la ricerca psicologica, soprattutto poiché tale proprietà non è presente in nessun altro indice psicofisiologico tradizionale, come ad esempio la misura elettrodermica o cardiovascolare (Grillon & Baas, 2003). Sebbene sia possibile indagare lo stato emotivo di un individuo utilizzando misure *self-report*, tali metodologie risentono fortemente di fattori quali la percezione individuale, le caratteristiche del compito e le distorsioni intenzionali del soggetto. Inoltre le misure *self-report* non possono essere utilizzate negli infanti di pochi mesi di vita. Poiché l'elicitazione della risposta di startle non richiede nessuna abilità verbale e nessun controllo volontario, il paradigma di startle si pone potenzialmente come una importante metodologia per l'indagine dello sviluppo affettivo (vedi Appendice teorica).

Nonostante gli importanti risultati ottenuti dalla ricerca neuroscientifica, e nonostante tali premesse, l'utilizzo dello *startle probe paradigm* non ha trovato una diffusa applicazione nella ricerca sullo sviluppo. Il suo utilizzo nei primi mesi di vita ha tuttavia portato dei dati di grande interesse sia nell'ambito dello studio dei processi affettivi sia nell'ambito dello studio dei processi attentivi. Di seguito verranno discussi i principali contributi scientifici in cui si

ritrova un utilizzo del paradigma dello *startle probe* nell'indagine dello sviluppo affettivo ed attentivo nei primi mesi di vita. Successivamente verranno analizzati i fattori primari che ne hanno determinato una scarsa diffusione nella ricerca sullo sviluppo.

### *Modulazione affettiva*

Lo studio di Marie Balaban (1995) rappresenta un esempio paradigmatico della versatilità d'uso dello *startle probe paradigm* nella ricerca sullo sviluppo umano. Scopo di questo esperimento era indagare, attraverso la modulazione della risposta di startle, se i bambini di 5 mesi sono in grado, non solo di discriminare percettivamente tra diverse espressioni facciali di emozione, ma anche di comprenderne il significato.

La Balaban (1995), adattando ai suoi obiettivi di ricerca la metodologia messa a punto da Lang e collaboratori (Bradley et al., 1993; Lang, 1995), ha presentato ai bambini, mediante la proiezione di diapositive, espressioni facciali di gioia (espressioni positive), di rabbia (espressioni negative) ed espressioni neutre. Lo stimolo acustico in grado di attivare lo startle (un breve ed improvviso picco di rumore bianco) veniva somministrato in corrispondenza dei periodi in cui i bambini esploravano visivamente gli stimoli. Il disegno sperimentale consentiva di predire che soltanto la comprensione del significato di quelle specifiche espressioni avrebbe potuto determinare il fenomeno della modulazione della risposta di startle, potenziandola durante l'esposizione alle espressioni di rabbia e inibendola durante la presentazione di espressioni di gioia. Veniva assunto, in particolare, sulla base del modello di Lang (1995), che l'esposizione all'espressione di rabbia fosse in grado di attivare il sistema motivazionale aversivo del bambino, così come l'esposizione all'espressione di gioia attivasse il sistema motivazionale appetitivo. Il *blink*, utilizzato come indice o marcatore (*probe*) in grado di rivelare il significato attribuito dai bambini alle espressioni facciali, veniva rilevato e misurato attraverso la registrazione elettromiografica dell'attività del muscolo *orbicularis oculi*.

Attraverso l'utilizzo di questa ingegnosa procedura, la Balaban (1995) è riuscita a dimostrare l'influenza modulatoria esercitata dalle espressioni emotive sul riflesso d'ammicciamento e quindi la capacità di attribuire a 5 mesi un significato connotato affettivamente alle espressioni di gioia e rabbia. Infatti, rispetto al *blink* elicitato durante la presentazione delle diapositive neutre, l'ampiezza del riflesso aumentava quando lo stimolo uditivo veniva somministrato durante la visione di espressioni di rabbia e si riduceva durante la visione di espressioni di gioia. E' importante sottolineare che prima di questo lavoro sperimentale era già noto che il bambino molto precocemente è in grado di discriminare



percettivamente tra diverse espressioni facciali (Haviland & Lelwica, 1987; Langsdorf, Izard, Rayais, & Hembree, 1983), ma non era ancora stato possibile dimostrare in modo definitivo la capacità di comprenderne il significato da un punto di vista comunicativo.

Il paradigma dello *startle probe* è stato utilizzato anche nello studio delle differenze temperamentali, in particolare nelle indagini relative alle origini dell'*inibizione o timidezza comportamentale* (Schmidt & Fox, 1998; Schmidt, Fox, Rubin, Sternberg, Gold, Smith, et al., 1997; Schmidt, Fox, Schulkin, & Gold, 1999). L'inibizione comportamentale riflette una tendenza a mostrare paura e/o una eccessiva circospezione in risposta a stimoli nuovi. I bambini con un comportamento inibito mostrano, infatti, una difficoltà maggiore rispetto agli altri bambini nell'avvicinare cose e persone sconosciute, in presenza delle quali reagiscono ricercando uno stretto contatto con la madre. Inoltre, questi bambini tendono ad esibire più frequentemente emozioni negative (per es. paura, rabbia), manifestando spesso irritabilità ed episodi di pianto. Queste tendenze comportamentali osservabili nel corso dei primissimi anni di vita sembrano costituire un fattore di rischio rilevante per lo sviluppo dei disturbi d'ansia nell'infanzia e nell'adolescenza (Hirshfeld, Rosenbaum, Biederman, Bolduc, Faraone, Snidman, et al., 1992).

L'utilizzo della risposta di startle ha assunto in questo contesto un ruolo fondamentale nelle ricerche condotte da Schmidt e Fox (Schmidt & Fox, 1998; Schmidt et al., 1997; Schmidt et al., 1999), impegnati a verificare una ipotesi biologica circa le origini dell'inibizione comportamentale (una eccessiva eccitabilità dell'amigdala, v. Kagan, Reznick, & Snidman, 1987, 1988), e quindi interessati ad individuare le caratteristiche che la specificano sempre più precocemente nel corso dello sviluppo. Questi studiosi ritengono, in particolare, che il paradigma dello *startle probe* possa fornire informazioni affidabili circa la condizione emozionale del bambino in età preverbale in risposta a stimoli e situazioni manipolate sperimentalmente. E' proprio per avere accesso a tali informazioni non direttamente osservabili che Schmidt e Fox (Schmidt & Fox, 1998; Schmidt et al., 1997; Schmidt et al., 1999) si sono serviti ripetutamente del paradigma.

Questi studiosi, per esempio, hanno indagato longitudinalmente un gruppo di bambini a partire dal quarto mese di vita. A tale età, sulla base di numerose prove comportamentali, registrazioni psicofisiologiche e compilazione di questionari da parte delle madri, i bambini sono stati suddivisi in tre gruppi, il primo dei quali presentava le caratteristiche che definiscono gli aspetti temperamentali propri dell'inibizione comportamentale, cioè frequenti manifestazioni di affettività negativa associate ad una elevata attività motoria in risposta alla novità (Kagan & Snidman, 1991). A 9 mesi questi tre gruppi di bambini sono stati

nuovamente esaminati e messi a confronto tra loro utilizzando, tra le altre condizioni, lo *startle probe paradigm*.

Allo scopo di individuare una situazione sperimentale eticamente accettabile, che mettesse in evidenza la reazione del bambino nei confronti di uno stimolo nuovo, essi utilizzarono il paradigma, ben conosciuto in letteratura, dello *stranger approach* (Ainsworth, Blehar, Waters, & Wall, 1978; Ainsworth & Witting, 1969). Tale paradigma prevede l'interazione del bambino con un adulto sconosciuto. In presenza dell'estraneo e durante l'interazione con il bambino, gli sperimentatori somministravano per due volte lo stimolo acustico in grado di elicitare lo startle. Successivamente latenza e ampiezza del riflesso di ammiccamento venivano confrontati con le stesse variabili ottenute nella situazione in cui il bambino interagiva con la madre (*baseline*). I risultati mostrarono un potenziamento della risposta di startle, rispetto alla condizione di controllo, nel gruppo di soggetti che a 4 mesi aveva mostrato alcune caratteristiche dell'inibizione comportamentale, mentre questa situazione non determinava alcuna variazione della risposta negli altri due gruppi di bambini (Schmidt & Fox, 1998). E' importante sottolineare che i tre gruppi non si diversificavano tra loro relativamente ai valori di *baseline* della risposta, mentre le differenze emergevano in modo significativo quando si confrontavano i valori registrati durante la situazione-stimolo (presenza dell'estraneo).

Analogamente ai risultati ottenuti dalla ricerca condotta dalla Balaban (1995), anche Schmidt e Fox (1998) hanno messo in evidenza in modo chiaro come lo stato affettivo del bambino sia in grado di modulare le caratteristiche della risposta di startle, proprio come avviene nell'adulto. La misurazione dello startle può perciò essere ritenuta una nuova e promettente metodologia per lo studio dell'ontogenesi dei fenomeni emotivi, dal momento che è in grado di fornire informazioni precise circa la valenza affettiva degli eventi percepiti, sin dalle prime settimane di vita.

### *Modulazione attentiva*

Numerose ricerche (Balaba, 1996; Balaban, Anthony, & Graham, 1989; Richards, 1998, 2000), allo scopo di indagare se nel corso del primo sviluppo si verificano dei cambiamenti nelle caratteristiche dell'attenzione selettiva, hanno utilizzato un paradigma messo a punto per la prima volta da Anthony e Graham (1983), il quale prevede la presentazione di uno stimolo di sfondo "interessante" oppure "non interessante", solitamente di tipo visivo o uditivo, e, dopo quattro secondi, la somministrazione dello stimolo elicitante il *blink* (anch'esso di tipo visivo o uditivo).

Come già accennato in precedenza, studiando un gruppo di bambini di 16 settimane, Anthony e Graham (1983) registrarono un significativo aumento dell'ampiezza del *blink* quando l'attenzione dei soggetti era rivolta verso gli stimoli di sfondo "interessanti" e quando lo stimolo elicitante il *blink* e lo stimolo di sfondo condividevano la stessa modalità sensoriale, cioè erano entrambi di tipo visivo oppure uditivo. Questo significa che quando l'attenzione era focalizzata e quando lo stimolo di sfondo e lo stimolo elicitante erano congruenti piuttosto che incongruenti per modalità sensoriale, il picco di rumore bianco (modalità uditiva) e il flash di luce (modalità visiva) venivano processati con maggiore efficienza dai bambini. Questo aumento o diminuzione del *blink* nelle condizioni congruenti (*match*) o incongruenti (*mismatch*) per modalità sensoriale, ha rivelato per la prima volta gli effetti di un'attenzione selettiva modale ad un'età molto precoce nell'infanzia (Anthony & Graham, 1983; Richards, 1998, 2000).

Con l'obiettivo di ampliare e approfondire i dati ottenuti nel corso degli anni Ottanta da Anthony e Graham (1983, 1985), Richards ha condotto due distinti studi nel 1998 e nel 2000: nel primo, utilizzando stimoli di sfondo visivi oppure uditivi, cioè di tipo unimodale, ha indagato un gruppo di bambini tra le 8 e le 26 settimane di età; nel secondo, pur utilizzando la stessa metodologia precedentemente adottata, ha presentato ai bambini stimoli di sfondo di tipo multimodale, cioè stimoli composti di tipo sia visivo sia uditivo. La novità introdotta da queste ricerche, oltre al disegno longitudinale, era l'utilizzo di una nuova metodologia mediante la quale venivano individuate le diverse fasi attentive del bambino (*baseline*, attenzione sostenuta oppure in fase di disancoraggio attentivo) sulla base di specifiche modificazioni della frequenza cardiaca (Richards, 1997).

Entrambi gli studi evidenziarono una modulazione del riflesso di ammiccamento determinata dalla condizione attentiva degli infanti. In particolare, l'ampiezza del *blink* aumentava quando l'attenzione del soggetto era rivolta verso lo stimolo di sfondo (attenzione ancorata), quando cioè veniva registrata una decelerazione del battito cardiaco, mentre diminuiva quando l'accelerazione della frequenza cardiaca e il ritorno ai valori di *baseline* indicavano una fase di attenzione libera o non ancorata. Richards (1998, 2000) ha, inoltre, messo in evidenza un aumento della modulazione del riflesso al crescere dell'età dei bambini. La facilitazione del *blink*, cioè il suo aumento in ampiezza, cresceva, infatti, tra le 8 e le 26 settimane nella situazione in cui l'attenzione dei soggetti era ancorata, cioè rivolta nei confronti dello stimolo di sfondo. Questo invece non si verificava nella condizione di controllo. Tale risultato implica che tra i 2 e i 6 mesi l'attenzione selettiva, e in particolare l'attenzione sostenuta, sia sottoposta a modificazioni di tipo evolutivo.

Nello studio del 1998, in particolare, Richards ha confermato i dati ottenuti da Anthony e Graham (1983, 1985), dimostrando che quando la modalità sensoriale dello stimolo di sfondo e dello stimolo elicitante il *blink* concordano (*match*), è possibile osservare un significativo effetto di facilitazione della risposta, cioè un aumento dell'ampiezza del *blink*. Questo dato rinforza l'ipotesi dell'esistenza di sistemi attentivi modalità specifici già nelle prime settimane di vita. Nello studio successivo (Richards, 2000), la facilitazione del *blink* durante i periodi di attenzione sostenuta nei confronti degli stimoli di sfondo multimodali risultò addirittura di grandezza doppia rispetto alla facilitazione del *blink* in risposta agli stimoli unimodali utilizzati nel primo esperimento. Questo ha consentito di ipotizzare (Richards, 2000) che gli stimoli multimodali, oltre a risultare più interessanti e quindi più attivanti per i bambini, implicano contemporaneamente il coinvolgimento dei sistemi corticali attentivi di tipo visivo e uditivo, determinando un effetto sommatoria sull'intensità del *blink*. La facilitazione del *blink* si verificava, infatti, sia quando lo stimolo elicitante il riflesso era di tipo uditivo, sia quando era di tipo visivo.

#### *Problematiche nell'indagine della risposta di startle nei primi mesi di vita*

L'analisi della risposta di startle sembra essere in grado di fornire, quindi, informazioni essenziali circa lo sviluppo delle emozioni e dell'attenzione, proponendosi come una nuova e preziosa metodologia utilizzabile sin dalle prime settimane di vita. Tuttavia, le ricerche pubblicate sono molto poche e questo paradigma stenta ancora oggi ad assumere un ruolo centrale nella ricerca sullo sviluppo umano. Probabilmente le ragioni fondamentali che giustificano questo ritardo rispetto alla notevole diffusione del paradigma nello studio degli adulti, sono essenzialmente due: la prima strettamente legata all'utilizzo della tecnica EMG (Agnoli et al., 2007; Agnoli et al., in corso di stampa), la seconda alla scarsità di stimoli o compiti dotati di salienza affettiva per infanti di pochi mesi di vita (Grillon & Baas, 2003).

Per quanto concerne l'utilizzo della registrazione elettromiografica, questa tecnica prevede alcune manovre moderatamente invasive, necessarie per l'applicazione degli elettrodi sul volto del bambino. E' indispensabile, infatti, provocare una piccola dermoabrasione sulla cute del volto in prossimità della palpebra inferiore. Questa manovra, lievemente dolorosa, determinerebbe negli infanti uno stato iniziale di disagio, inficiando, nel caso in cui oggetto d'indagine sia la modulazione affettiva della risposta, la qualità dei dati raccolti. Tale operazione, inoltre, sebbene compiuta da una mano esperta, viene svolta da un adulto sconosciuto al bambino, introducendo, soprattutto dopo i primi mesi di vita, un ulteriore evento stressante. Inoltre, contrariamente all'adulto, è praticamente impossibile impedire al

bambino di muoversi e di toccarsi il volto durante la registrazione, interferendo, in entrambi i casi, con la qualità dei dati ottenuti. Questi limiti, che derivano dalle modalità stesse attraverso le quali viene rilevata la risposta di startle, hanno spinto gli studiosi ad utilizzare con parsimonia il paradigma dello *startle probe* nella ricerca sullo sviluppo, nonostante le sue grandi potenzialità, coinvolgendo, come abbiamo visto, soltanto bambini sani e relativamente grandi, a partire, cioè, dai 2 mesi di vita.

Un secondo problema a cui la ricerca sulla modulazione affettiva della risposta di startle nei primi mesi di vita si è trovata a fare fronte, è legato all'utilizzo di stimoli (denominati in letteratura *foreground stimuli*) in grado di determinare uno stato emozionale positivo o negativo negli infanti. Come in parte hanno dimostrato McManis et al. (2001), gli stimoli solitamente utilizzati nell'indagine di questo fenomeno negli adulti (come ad esempio le immagini della IAPS) risultano spesso privi di significato ed inappropriati per i bambini (Grillon & Baas, 2003). Prima di adottare un paradigma sperimentale basato sulla presentazione di stimoli emozionali sarebbe perciò necessaria un'approfondita riflessione sulle tipologie di stimoli realmente salienti per gli infanti. Per comprendere lo sviluppo degli stati affettivi è necessario infatti chiedersi come elicitarli tali stati nel corso dello sviluppo. Soprattutto a tale domanda la ricerca sullo sviluppo della modulazione affettiva dello startle ha cercato di trovare una risposta. Su tale domanda la ricerca si è però anche arenata, determinando in parte quel notevole ritardo che caratterizza l'utilizzo dello *startle probe paradigm* nei primi mesi di vita rispetto alla diffusione del paradigma nello studio degli adulti (Grillon & Baas, 2003). A questo punto ci si potrebbe persino domandare se tale questione sia realmente fondata. Per indagare lo sviluppo della modulazione affettiva della risposta di startle è cioè necessario affidarsi ad una metodologia basata sulla presentazione di stimoli in grado di determinare uno stato emozionale positivo o negativo negli infanti? Non è possibile invece indagare lo sviluppo degli stati affettivi e della modulazione della risposta basandosi su paradigmi sperimentali adatti alla prima infanzia senza che questi derivino necessariamente dallo studio degli adulti? A tali domande la parte sperimentale di questo lavoro ha cercato di dare risposta, indagando attraverso metodologie e paradigmi sperimentali creati appositamente per la prima infanzia, la modulazione affettiva ed attentiva della risposta di startle nei primi mesi di vita.



## Capitolo 2

### **Nuove proposte metodologiche per l'indagine della risposta di startle nei primi mesi di vita**

#### ***Da blink a whole body startle: un nuovo approccio misurativo della risposta di startle***

Un concetto apparso in tempi relativamente recenti nell'indagine della risposta di startle è il cosiddetto *whole body startle* (risposta motoria globale di startle) (Leaton & Borszcz, 1985; Walker & Davis, 1997; Winslow, Parr, & Davis, 2002). I lavori che indagano questo fenomeno non utilizzano una semplice registrazione dell'attività elettromiografica dell'orbitale dell'occhio per quantificare lo startle, ma utilizzano metodologie in grado di rilevare l'attività motoria complessiva che caratterizza lo startle su tutto il corpo. Sebbene infatti la misurazione dell'*eyeblink* si sia rivelata assai sensibile ed altamente resistente al fenomeno dell'abituazione, l'attenzione di alcuni ricercatori si è rivolta all'indagine di un fenomeno che rispecchi maggiormente le caratteristiche del complesso comportamento di startle: la risposta motoria globale di startle.

La misurazione della risposta motoria che caratterizza lo startle è in realtà la metodologia maggiormente utilizzata nell'indagine della risposta nei ratti e, più recentemente, nelle scimmie (Cassella & Davis, 1986; Walker & Davis, 1997; Winslow et al., 2002). La risposta di startle, in questo contesto, viene quantificata attraverso l'uso di strumentazioni che registrano l'attività motoria complessiva prodotta dagli animali all'interno delle gabbie. Tale metodologia misurativa si basa, in particolare, sull'utilizzo di alcuni sensori accelerometrici applicati al pavimento della gabbia (Figura 2.1), in grado di mappare, oltre alla intensità dei movimenti, anche la loro distribuzione nello spazio e nel tempo (Cassella & Davis, 1986; Walker & Davis, 1997; Winslow et al., 2002). Esattamente come avviene con la registrazione elettromiografica per quanto riguarda l'*eyeblink*, queste metodologie consentono di rilevare la latenza e l'intensità della risposta motoria che avviene su tutto il corpo.

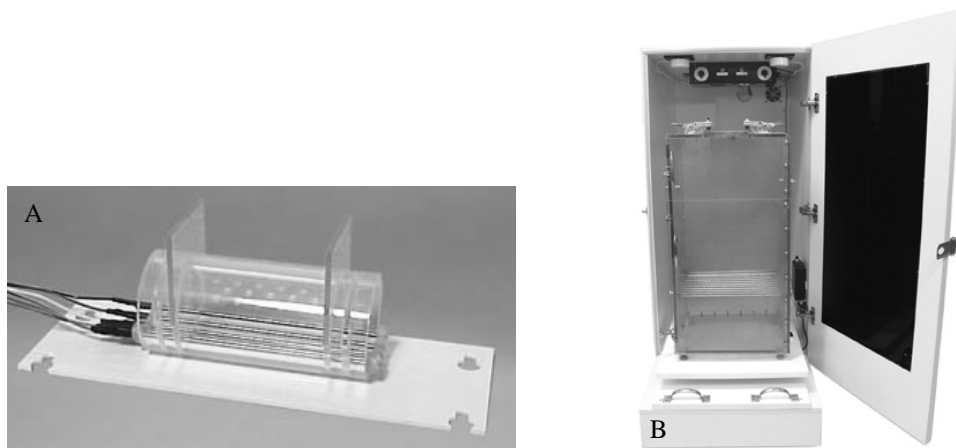


Figura 2.1. Due modelli di gabbie utilizzate per misurare la risposta motoria globale di startle (*whole body startle*) nei ratti (A) e nelle scimmie (B).

Recentemente Hillman (Hillman, Rosengren, & Smith, 2004; Hillman, Hsiao-Wecksler, & Rosengren, 2005), apportando alcune modifiche, ha importato questa tecnica misurativa nella rilevazione della risposta motoria di startle degli esseri umani adulti. In particolare quest'autore ha ideato una piattaforma, che, grazie ad alcuni sensori accelerometrici posti sotto il supporto, è in grado di registrare i movimenti conseguenti alla risposta di startle eseguiti da soggetti adulti posti in piedi sullo strumento. Tale metodologia permette di registrare le variazioni del centro di pressione (*Center of Pressure, COP*), le quali sono in grado di fornire una misura dei movimenti eseguiti dai soggetti sulla piattaforma (Figura 2.2).

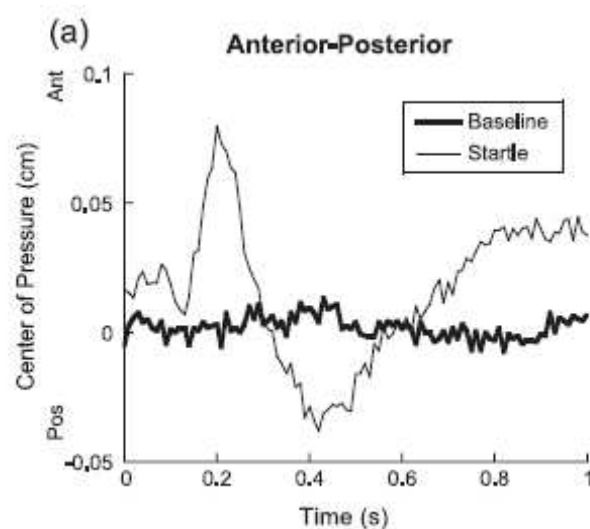


Figura 2.2. Un esempio di segnale relativo ad una risposta motoria globale di startle registrata dallo strumento ideato da Hillman (da Hillman, Hsiao-Wecksler, & Rosengren, 2005, *International Journal of Psychophysiology*, 55, 45– 49).



L'utilizzo di questa piattaforma si è rivelata assai sensibile alla rilevazione della risposta di startle negli esseri umani adulti (Hillman, et al., 2005). Inoltre, grazie ad un'analisi correlazionale, Hillman ha dimostrato un'associazione positiva tra la registrazione della risposta effettuata con la piattaforma e la registrazione dell'attività dell'orbicolare dell'occhio effettuata con l'EMG (Hillman, et al., 2005). Sebbene la risposta motoria globale presenti un tempo di latenza più lungo rispetto al solo *eyeblink*, questo risultato testimonia come le due tecniche misurative siano sovrapponibili nell'indagine dello startle negli esseri umani.

### **Una metodologia innovativa per la misurazione non-invasiva dello startle nella prima infanzia: l'Automated Infant Motor Movement Startle Seat (AIMMSS)**

La possibilità di misurare la risposta motoria di startle senza l'applicazione degli elettrodi necessari alla rilevazione dell'attività muscolare è in grado di apportare un fondamentale contributo all'indagine dello startle nella prima infanzia, permettendo il superamento di alcune evidenti difficoltà legate all'utilizzo dell'EMG nei primi mesi di vita, quali l'invasività e la bassa ecologicità. Come specificato nel precedente capitolo, sono proprio le problematiche legate all'utilizzo della tecnica elettromiografica che hanno determinato un ritardo nell'utilizzo del paradigma dello *startle probe* nella primissima infanzia (Agnoli et al., 2007).

Gli evidenti vantaggi connessi alla misurazione del *whole body startle* ha spinto recentemente Marco Dondi ed il suo gruppo di ricerca (Laura Franchin, Marco Castellani ed il sottoscritto) a sviluppare una nuova metodologia in grado di misurare in modo del tutto non invasivo tale fenomeno nei primi mesi di vita (Agnoli, Franchin, Dondi, & Castellani, 2008; Agnoli, Dondi, Franchin, & Scatturin, 2007; Dondi, 2008; Dondi, Agnoli, Vacca, Franchin, & Scatturin, 2005; Dondi, Franchin, Agnoli, Vacca, & Scatturin, 2005; Franchin, 2006; Franchin, Dondi, Agnoli, & Scatturin, 2007). Rifacendoci alle metodologie utilizzate per rilevare la risposta motoria globale di startle negli animali, abbiamo ideato e sviluppato un seggiolino, opportunamente attrezzato, in grado di rilevare i movimenti conseguenti alla risposta di startle eseguiti dai bambini seduti su di esso.

In particolare, tale strumentazione, denominata *Automated Infant Motor Movement Startle Seat* (AIMMSS), si compone di un seggiolino per infanti solidale a quattro balestre di acciaio ancorate ad una testa metallica, su cui sono montati dei sensori estensimetrici che permettono di registrare delle tensioni elettriche proporzionali alle variazioni di sforzo applicato sul seggiolino stesso (Figura 2.3). Tale sistema si basa perciò sull'utilizzo di alcuni

sensori estensimetrici che, posizionati sotto il seggiolino, sono in grado di trasdurre in potenziale elettrico le deformazioni meccaniche conseguenti ai movimenti di startle. I segnali elettrici, trasdotti ai capi di un opportuno sistema di amplificazione e scalati in Volts (Figura 2.3, B), sono acquisiti da una scheda di input analogico montata nello slot disponibile di un PC portatile. Dal lato software, un ambiente di programmazione grafica ad hoc (National Instruments™, Labview Vers. 6.1) esegue le operazioni di gestione e controllo della scheda, nonché l'acquisizione e le memorizzazioni su file dei dati provenienti dalla stessa, implementati da programmi appositamente sviluppati.

Una particolarità della strumentazione è la capacità di collocare il movimento nello spazio, sulla base dei sensori montati sulle quattro balestre d'acciaio. Grazie a questi, è possibile ottenere informazioni su quattro canali singoli (avanti X1, dietro X2, destra Y2 e sinistra Y1), sulla differenza dei canali su uno stesso asse (avanti-dietro X1-X2 e destra-sinistra Y2-Y1) ed una somma totale del movimento su tutti i canali.

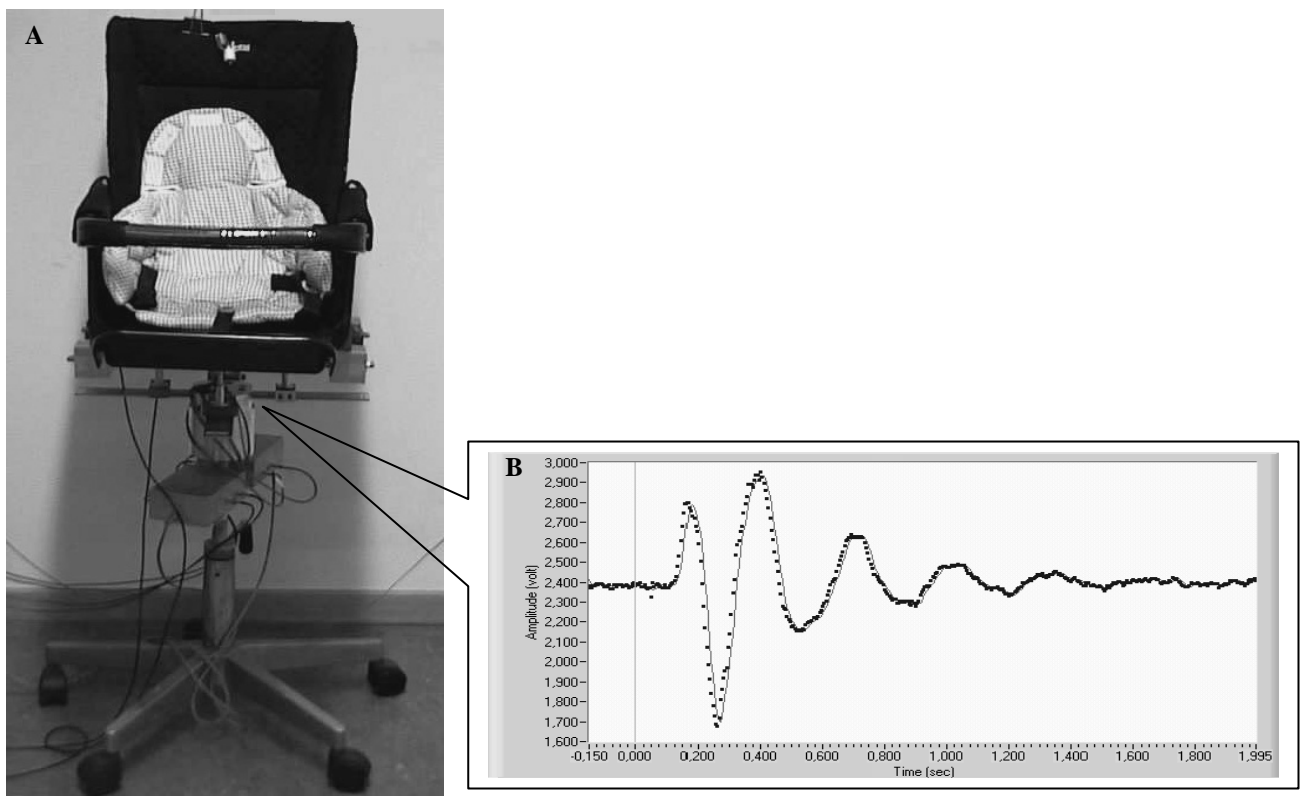


Figura 2.3. L'Automated Infant Motor Movement Startle Seat (AIMMSS) (A) e un esempio di segnale relativo ad una risposta motoria globale di startle registrata dallo strumento (B). Il bambino viene adagiato confortevolmente sul seggiolino e le risposte di startle vengono registrate dai sensori estensimetrici posti sulle quattro balestre d'acciaio connesse meccanicamente al seggiolino.

Grazie a diversi finanziamenti (PRIN 2006, FAR 2006, 2008; responsabile scientifico Marco Dondi) è stato possibile sviluppare tale metodologia e testarne l'utilizzo nella

rilevazione della risposta di startle in differenti disegni sperimentali (Agnoli et al., 2007; Dondi, 2008; Dondi et al., 2005; Franchin, 2006; Franchin et al., 2007). I primi dati hanno dimostrato l'estrema sensibilità ed affidabilità dell'AIMMSS nella rilevazione dei parametri (latenza ed ampiezza) della risposta motoria globale di startle esibita dai bambini nel corso delle sessioni sperimentali (Agnoli et al., 2007; Dondi, 2008; Dondi et al., 2005; Franchin, 2006; Franchin et al., 2007). In particolare, mediante l'utilizzo di questo apparato, la risposta di startle infantile è stata indagata sinora in tre distinte ricerche sperimentali:

- 1) in un primo studio l'utilizzo dell'AIMMSS è stato affiancato a due metodologie non invasive di analisi (a video) del comportamento facciale adottate in letteratura per la rilevazione dello startle, al fine di creare un nuovo protocollo non invasivo per la misurazione della risposta nella prima infanzia (Agnoli et al., 2007; Dondi et al., 2005; Franchin, 2006);
- 2) in un secondo studio, grazie alla possibilità offerta dall'AIMMSS di misurare latenza ed ampiezza della risposta di startle anche separatamente sui due lati del corpo, è stata indagata la lateralizzazione della risposta di startle di infanti di 5 mesi di vita (Franchin, 2006; Franchin et al., 2007);
- 3) un ulteriore studio ha consentito infine di indagare l'influenza esercitata dagli stati affettivi sulla risposta di startle in infanti di 3 e di 5 mesi di vita (Dondi, 2008; Franchin, 2006).

E' inoltre tuttora in atto un progetto di ricerca che prevede l'utilizzo dell'AIMMSS nella diagnosi precoce di patologie neurologiche in epoca neonatale. In particolare, in collaborazione con il reparto di Neonatologia dell'Ospedale S. Anna di Ferrara, è stato sviluppato un protocollo clinico che prevede l'uso dell'AIMMSS nello studio del comportamento di startle nei bambini nati a termine e pretermine. Tale protocollo è stato sottoposto alla valutazione sia del Comitato Etico dell'Azienda Ospedaliero-Universitaria di Ferrara sia del Ministero dello Salute. Le approvazioni ottenute recentemente da parte di entrambe le istituzioni consentirà perciò a breve di iniziare la sperimentazione clinica dell'AIMMSS.

L'utilizzo dell'AIMMSS si può rivelare perciò prezioso nell'indagine di diversi fenomeni legati alla risposta di startle infantile. Tale strumentazione consente infatti un approccio metodologico del tutto nuovo allo studio della risposta di startle nella prima infanzia. Di seguito verranno mostrate più nel dettaglio le evidenze sperimentali che hanno dimostrato l'affidabilità dell'AIMMSS nella rilevazione e misurazione dello startle infantile nei tre filoni di ricerca sopra menzionati.

*Un nuovo protocollo non-invasivo per l'indagine della risposta motoria globale di startle nella prima infanzia*

L'invasività e l'intrusività legate all'utilizzo della tecnica elettromiografica nella rilevazione del riflesso di ammiccamento palpebrale sono ritenute essere due possibili cause della scarsa diffusione dello studio della risposta di startle nella prima infanzia (Agnoli et al., 2007). Allo scopo di superare i limiti metodologici legati all'utilizzo dell'EMG nell'indagine sullo sviluppo, è stato testato un nuovo protocollo non invasivo e non intrusivo adatto alla misurazione della risposta di startle nei primi mesi di vita (Agnoli et al., 2007; Dondi et al., 2005; Franchin, 2006). Uno scopo generale di questo protocollo è consentire la misurazione della risposta in un contesto altamente ecologico, quale l'interazione madre-bambino. Proprio in questo contesto il protocollo prevede l'utilizzo di tre metodologie misurative non invasive, come l'AIMMSS (*Automated Infant Motor Movement Startle Seat*; Dondi et al., 2005), l'*Eye-Blink Strength Scale* (EBS Scale; Essex, Goldsmith, Smider, Dolski, Sutton, & Davidson, 2003) e il *Facial Action Coding System* (FACS; Ekman, Friesen, & Hager, 2002), in particolare la versione riadattata per il volto infantile, cioè il Baby FACS (Oster, in corso di stampa).

L'utilizzo di queste tre metodologie ha consentito di creare un *setting* sperimentale assolutamente non intrusivo per la diade madre-bambino. Infatti le apparecchiature sperimentali venivano percepite dal bambino e dal genitore come strumenti che generalmente caratterizzavano la loro quotidianità, quali un normale seggiolino (con la base rivestita da una coperta colorata), una videocamera ed un computer portatile. Non vi era inoltre alcuna applicazione di elettrodi in nessuna parte del corpo dell'infante. Inoltre i genitori potevano sistemare da soli i bambini nel seggiolino, senza che gli sperimentatori dovessero avvicinarsi o toccare il bambino in alcun modo, ed in seguito sedevano accanto all'infante ed interagivano normalmente con esso.

Nel corso di questo studio l'AIMMSS è stato utilizzato per misurare la latenza e l'ampiezza della risposta motoria globale di startle degli infanti (la contrazione dei muscoli dell'intero corpo conseguente alla risposta di startle veniva definita in questo studio come componente posturale).

Le altre due metodologie di cui si componeva il protocollo avevano invece la funzione di misurare la componente facciale della risposta di startle. L'*EBS Scale* (Essex et al., 2003), una scala di codifica ideata per misurare l'intensità dell'*eyeblick*, è stata utilizzata per misurare la forza dell'ammiccamento palpebrale in seguito alla somministrazione dello *startle*

*stimulus*. L'intensità della contrazione muscolare, in particolare, veniva misurata su una scala a sette punti (da bassa ad alta intensità) da due codificatori indipendenti, sulla base delle registrazioni del volto del bambino effettuate mediante una telecamera digitale. Questa metodologia di codifica è stata utilizzata da Essex et al. (2003) per misurare l'*eyeblick* in un gruppo di bambini compresi tra i 3 ed i 7 anni. Al fine di testare la validità di questo sistema misurativo, l'autore correlò i dati relativi alla magnitudine delle risposte di startle derivanti da una misurazione elettromiografica e dalle misurazioni effettuate con l'*EBS Scale*. Egli trovò, in particolare, un'associazione positiva tra i due sistemi misurativi, dimostrando come questa metodologia di codifica video potesse essere considerata una valida alternativa alla misurazione standard effettuata con l'elettromiografia (Essex et al., 2003). Inoltre, per codificare la contrazione dei muscoli facciali conseguente allo *startle stimulus* è stato utilizzato il FACS (Ekman et al., 2002). Tale metodo di codifica rappresenta il sistema su base anatomica più diffuso e completo, in grado di codificare ogni azione facciale osservabile sul volto dell'essere umano. Tale sistema era già stato utilizzato per rilevare le diverse azioni facciali che caratterizzano la risposta di startle (Ekman et al., 1985; Hager & Ekman, 1985). Ekman et al. (1985), in particolare, avevano identificato ed analizzato sei unità d'azione corrispondenti alle contrazioni muscolari che caratterizzano la componente facciale della risposta di startle. Il presente studio ha perciò calcolato ed analizzato gli onsets di tali unità d'azione. In particolare, per tale codifica è stato utilizzato il Baby FACS (Oster, in corso di stampa), la versione riadattata del FACS per l'indagine del comportamento facciale di infanti e neonati.

L'obiettivo quindi più generale di questo studio (Agnoli et al., 2007; Dondi et al., 2005; Franchin, 2006) era quello di analizzare le misurazioni dello startle derivanti da queste tre differenti metodologie. Nello specifico sono stati coinvolti in questo nuovo protocollo non invasivo per la misurazione della risposta motoria di startle 12 bambini di 5 mesi di vita. Mentre i bambini sedevano sul seggiolino ed interagivano con la madre venivano loro somministrate delle brevi stimolazioni acustiche. Le misurazioni dell'ampiezza e della latenza della risposta di startle, derivanti dall'AIMMSS e dai due metodi di codifica video, sono state analizzate mediante un'analisi correlazionale.

Le analisi, in particolare, hanno rilevato un'associazione positiva tra i parametri della risposta corporea registrati dall'AIMMSS ed i parametri della componente facciale registrati con i due sistemi di codifica. Nello specifico, le analisi condotte sull'ampiezza misurata dall'AIMMSS e sull'intensità codificata con l'*EBS Scale* hanno mostrato in modo significativo come ad una maggiore intensità di chiusura dell'occhio corrisponde una

maggior intensità della risposta motoria globale registrata dall'AIMMSS. L'*EBS Scale* fornisce un'alternativa affidabile per la misurazione dell'intensità dell'*eyeblick* rispetto alla misurazione oggettiva e computerizzata effettuata grazie alla registrazione elettromiografica (Essex et al., 2005). L'AIMMSS consente una misurazione non-invasiva oggettiva e computerizzata della risposta motoria globale di startle e, proprio come l'*EBS Scale*, può essere proposta quale affidabile alternativa alla tradizionale misurazione elettromiografica per la misurazione dello startle nella prima infanzia. Per quanto concerne le analisi condotte sull'associazione tra le latenze di startle registrate dall'AIMMSS e gli onsets codificati con il Baby FACS, è emersa un'associazione positiva tra queste due misurazioni. Il trend emerso dai risultati ha evidenziato che ad una più rapida contrazione dei muscoli del volto codificata a video corrisponde una più veloce risposta motoria globale registrata dall'AIMMSS.

L'utilizzo combinato delle tre metodologie permette un'approfondita indagine dell'attività motoria della risposta di startle infantile, prendendo in considerazione la risposta nella sua complessità, analizzando sia la risposta motoria globale che avviene sull'intero corpo del bambino sia la componente facciale della risposta. Grazie all'utilizzo di questo protocollo (che non prevede l'applicazione di nessun elettrodo sul corpo dell'infante) sarà inoltre possibile pianificare in futuro degli esperimenti (sulla risposta di startle) in un contesto più naturale e maggiormente ecologico rispetto a quello consentito da un laboratorio.

In particolare l'AIMMSS sembra offrire una valida soluzione per la misurazione computerizzata dei parametri della risposta di startle. Rispetto infatti alle misurazioni effettuate con l'*EBS Scale* e con il Baby FACS, l'AIMMSS consente una rilevazione completamente automatizzata della risposta di startle infantile, elemento che rende tale metodologia del tutto indipendente dalla valutazione soggettiva. Inoltre, rispetto all'EMG, la metodologia comunemente utilizzata nella rilevazione della risposta negli adulti, l'AIMMSS consente una registrazione dello startle del tutto non invasiva e non intrusiva, dimostrandosi perciò particolarmente adatta per la sperimentazione nei primi mesi di vita.

#### *Asimmetrie posturali e facciali della risposta di startle in infanti di 5 mesi di vita*

L'analisi delle asimmetrie del corpo umano è ritenuta essere un importante strumento diagnostico in ambito medico (Brazelton, 1984; Prechtel & Beintema, 1964) ed un ambito di ricerca centrale per le moderne neuroscienze (Erberich, Panigrahy, Friedlich, Seri, Nelson, & Gilles, 2006; Santesso, Reker, Schmidt, & Segalowitz, 2006; Sininger & Cone-Wesson, 2006). In particolare, la rilevazione durante l'esame neurologico neonatale di una pronunciata asimmetria a favore di un lato del corpo in seguito all'elicitazione di un riflesso, può essere

considerato un indice patognomico di un danno a carico del sistema nervoso centrale (Prechtl & Beintema, 1964).

L'indagine della lateralizzazione corporea nelle attività riflesse ha portato considerevoli evidenze a favore della presenza di bias motori e posturali nei riflessi neonatali, come nel caso del riflesso di prensione palmare o del riflesso di Babinski. Nella maggior parte dei neonati nati a termine tali riflessi mostrano infatti un bias a destra nella forza e nella frequenza di comparsa (Caplan & Kinsbourne, 1976; Grattan, De Vos, Levy, & McClintock, 1992). Rönqvist e Hopkins (1998) e Rönqvist (1995) trovarono inoltre che i neonati esibivano, durante il riflesso di Moro, una minor latenza di risposta nel braccio destro rispetto al braccio sinistro.

Nonostante la valutazione dello startle sia prevista dai più diffusi test neurocomportamentali messi a punto per la valutazione del neonato (Amiel-Tison, 1995, 2002; Brazelton, 1973; Prechtl & Beintema, 1964; Scanlon, Nelson, Grylack, & Smith, 1979), nessuna ricerca aveva mai approfondito la presenza di asimmetrie nella risposta di startle infantile. L'utilizzo dell'AIMMSS e del protocollo misurativo precedentemente descritto, ha consentito di indagare se lo startle elicito da una stimolazione acustica fosse una risposta lateralizzata in infanti di 5 mesi di vita (Franchin, 2006; Franchin et al., 2007). In particolare, la lateralizzazione dello startle è stata indagata analizzando le asimmetrie presenti in due componenti della risposta: la componente posturale (la contrazione dei muscoli dell'intero corpo conseguente alla risposta di startle) e la componente facciale, con particolare attenzione al riflesso di ammiccamento palpebrale.

Nello specifico, le metodologie adottate hanno consentito di analizzare separatamente sui due lati del corpo la componente facciale e posturale della risposta di startle. Mediante l'utilizzo dell'AIMMSS è stato possibile effettuare una rilevazione dell'intensità e della latenza della risposta motoria globale sul lato destro e sul lato sinistro del corpo. Nello specifico sono stati analizzati i segnali registrati dal canale destro (Y2) e dal canale sinistro (Y1) dello strumento. Grazie all'*EBS Scale* (Essex et al., 2003) è stata effettuata un'analisi dell'intensità di chiusura dell'occhio destro e dell'occhio sinistro in conseguenza al riflesso di ammiccamento palpebrale. Infine, mediante il Baby FACS (Oster, in corso di stampa), è stata condotta un'analisi sul lato destro e sul lato sinistro del volto della latenza delle contrazioni muscolari coinvolte nella componente facciale della risposta.

Le analisi condotte sulle misurazioni effettuate mediante le tre metodologie hanno rilevato la presenza di una asimmetria a favore del lato destro del corpo nel parametro della latenza registrato dall'AIMMSS. In particolare la latenza della risposta registrata dal canale

destro (Y2) dello strumento è risultata essere significativamente più breve rispetto alla latenza registrata dal canale sinistro dello strumento (Y1). La lateralizzazione nel parametro della latenza della risposta, e nello specifico una latenza più breve sul lato destro del corpo, suggerisce che gli infanti di 5 mesi di vita siano caratterizzati da un bias a destra, come dimostrato da Grattan et al. (1992) nell'indagine del riflesso di prensione palmare. Questo risultato è inoltre in linea con lo studio di Rönqvist (1995) che ha dimostrato la presenza di un bias a destra nella latenza dei movimenti di abduzione/estensione associati al riflesso di Moro.

Per quanto riguarda le analisi effettuate sulla componente facciale della risposta di startle non è stata evidenziata alcuna lateralizzazione né nel parametro della latenza (Baby FACS) né nel parametro dell'intensità (*EBS Scale*). La discrepanza nei risultati trovati nelle due componenti della risposta di startle può essere connessa alla maggiore sensibilità con cui l'AIMMSS è in grado di rilevare i parametri della risposta di startle rispetto alle altre due metodologie misurative. In particolare l'elevato campionamento temporale nella raccolta dei dati consentito dall'AIMMSS (otto volte maggiore rispetto al campionamento consentito dalla telecamera utilizzata per la registrazione del comportamento facciale dell'infante), può essere considerato un elemento fondamentale nella rilevazione delle lievi differenze che possono caratterizzare l'esecuzione della risposta di startle sui due lati del corpo.

#### *La modulazione affettiva della risposta di startle come indice degli stati emozionali positivi e negativi in infanti di 3 e di 5 mesi di vita*

La diffusione dell'indagine della risposta di startle nella ricerca fisiologica e neurofisiologica è legata principalmente al fatto che lo startle può essere utilizzato come sonda o marcatore per rilevare lo stato emozionale presente in un individuo. Come abbiamo visto nel Capitolo 1, le influenze modulatorie degli stati emozionali sulla risposta di startle sono state approfondite, infatti, in numerose ricerche. In particolare Lang ed i suoi colleghi hanno dimostrato come lo startle sia potenziato (minore latenza, maggiore ampiezza) durante uno stato emozionale negativo, mentre risulta inibito (maggiore latenza, minore ampiezza) durante uno stato emozionale positivo (Lang, 1995; Lang et al., 1998; Lang et al., 2000). Un esiguo numero di ricerche si è servito tuttavia dello startle per indagare gli stati emozionali nel corso dei primi mesi di vita. Balaban (1995), in particolare, ha dimostrato che lattanti di 5 mesi di vita sono in grado di comprendere il significato di espressioni facciali di emozioni, inibendo lo startle durante la visione di immagini raffiguranti un volto sorridente e potenziando la risposta durante la visione di immagini raffiguranti un volto arrabbiato.



Tuttavia nessuna ricerca ha più replicato tali risultati, né ha mai indagato la modulazione affettiva della risposta di startle prima dei 5 mesi di vita. È stata perciò condotta un'analisi sperimentale che ha consentito di indagare le influenze modulatorie esercitate dagli stati emozionali positivi e negativi sulla risposta di startle in infanti di 3 e di 5 mesi di vita (Dondi, 2008; Franchin, 2006). Mediante l'AIMMSS è stata realizzata un'analisi della latenza e dell'intensità delle risposte di startle elicitate con una stimolazione acustica negli infanti. Gli stati emozionali degli infanti sono stati individuati grazie ad un'analisi del comportamento espressivo-facciale degli infanti. Le espressioni facciali sono state analizzate da due codificatori indipendenti mediante il sistema di codifica AFFEX (*A System for Identifying Affect Expressions by Holistic Judgements*; Izard, Dougherty, & Hembree, 1983). Tale sistema di codifica offre alcuni evidenti vantaggi legati al fatto di poter effettuare dei giudizi olistici, relativamente alle espressioni facciali infantili, sulla base dell'osservazione simultanea sul volto di specifici *pattern* motori (Izard, 1982; Izard et al., 1983). Grazie all'utilizzo dell'AFFEX sono state in particolare codificate le espressioni di sorriso e di distress, le quali, secondo Izard, identificano nell'infante, rispettivamente, una condizione emozionale a tono edonico positivo ed una condizione emozionale a tono edonico negativo (Izard et al., 1983). I bambini sono stati selezionati sulla base di un *Affectivity Ratio*, un valore riassuntivo in grado di indicare lo stato emozionale esibito da ciascun infante nel corso dell'esperimento. In particolare, usando tale valore, sono stati selezionati i bambini che avevano esibito una chiara prevalenza di sorrisi (stato emozionale positivo) ed una chiara prevalenza di espressioni facciali di distress (stato emozionale negativo) nel corso dell'esperimento. Le analisi hanno perciò confrontato le risposte di startle esibite da infanti di 3 e 5 mesi caratterizzati da uno stato emozionale chiaramente negativo e le risposte esibite da infanti caratterizzati da uno stato emozionale chiaramente positivo.

Le analisi hanno rilevato che gli infanti di 5 mesi caratterizzati da uno stato emozionale chiaramente negativo avevano esibito una magnitudine di risposta maggiore rispetto agli infanti caratterizzati da uno stato emozionale chiaramente positivo. Tale risultato, in linea con i dati trovati da Balaban (1995), ha confermato la presenza del fenomeno della modulazione affettiva della risposta di startle (in particolare un potenziamento della risposta durante una condizione emozionale negativa) a 5 mesi di vita. Negli infanti di 3 mesi è tuttavia emerso un trend dei dati differente. In particolare i lattanti che a tale età avevano esibito nel corso dell'esperimento una chiara prevalenza di espressioni facciali di distress (stato emozionale negativo) tendevano a mostrare una magnitudine minore rispetto ai lattanti che avevano esibito una chiara prevalenza di sorrisi (stato emozionale negativo). Mentre

l'intensità della risposta in infanti caratterizzati da uno stato emozionale positivo non variava tra le due età testate, l'intensità della risposta è risultata maggiore a 5 mesi rispetto a 3 mesi in infanti caratterizzati da uno stato emozionale negativo. La differenza riscontrata nella modulazione della risposta alle due età è stata perciò imputata al differente effetto modulatorio esercitato a 3 e a 5 mesi di vita da uno stato emozionale negativo. In particolare si è ipotizzato che il tipico potenziamento dello startle esercitato da uno stato emozionale negativo maturi tra i 3 ed i 5 mesi di vita (Dondi, 2008; Franchin, 2006). È possibile infatti ipotizzare che le strutture cerebrali coinvolte nella modulazione della risposta di startle non abbiano ancora raggiunto una maturazione completa ai 3 mesi di vita.

L'utilizzo dell'AIMMSS si è rivelato fondamentale in tale studio per rilevare il fenomeno della modulazione affettiva della risposta di startle e, grazie alle differenze rilevate nell'esecuzione della risposta di startle, nel dimostrare la presenza di un differente pattern modulatorio in infanti di 3 mesi di vita.

### **Da stimoli affettivi ad indici espressivo-facciali: una nuova proposta per l'indagine dello sviluppo della modificazione della risposta di startle**

Come è stato esplicitato nel primo capitolo, il tentativo di importare le metodologie adottate nello studio della modificazione dello startle negli adulti ha limitato la diffusione dello *startle probe paradigm* nell'indagine della modulazione affettiva della risposta di startle nei primi mesi di vita. In particolare due erano le problematiche fondamentali emerse relativamente alla scarsa diffusione del paradigma nella prima infanzia: l'invasività e l'intrusività della misurazione elettromiografica (Agnoli et al., 2007) e le problematiche derivanti dall'utilizzo di immagini connotate affettivamente per l'indagine della modificazione affettiva dello startle nella prima infanzia (Grillon & Baas, 2003).

Come è emerso dagli studi che hanno utilizzato l'AIMMSS nell'indagine della risposta nei primi mesi di vita (Agnoli et al., 2007; Dondi, 2008; Dondi et al., 2005; Franchin, 2006; Franchin et al., 2007), è possibile ottenere una misurazione affidabile dello startle in una modalità alternativa rispetto alla misurazione effettuata mediante una registrazione elettromiografica. L'utilizzo dell'AIMMSS consente infatti di ottenere una misura obiettiva ed affidabile dei parametri della risposta di startle esente dai problemi di intrusività ed invasività legati all'utilizzo della tecnica elettromiografica nella prima infanzia. Per quanto concerne la presentazione di stimoli nell'indagine della modulazione affettiva della risposta di startle sono principalmente due le problematiche legate al loro utilizzo nella prima infanzia.

La prima, evidenziata da Grillon e Baas (2003), è legata alla difficoltà nell'individuare stimolazioni dotate di un significato affettivo per infanti nei primi mesi di vita, in grado cioè di modulare affettivamente la risposta di startle. Secondo i due autori, in particolare, le immagini connotate affettivamente utilizzate per l'indagine della modulazione negli adulti, avrebbero una scarsa salienza affettiva durante la prima infanzia. Tale posizione sarebbe avvalorata dai risultati forniti da McManis et al. (McManis, Berg, Bradley, Cuthbert, & Lang, 2001), i quali hanno approfondito il significato affettivo delle immagini utilizzate con soggetti adulti nell'indagine della modulazione affettiva della risposta di startle in bambini dai 7 ai 10 anni (McManis, Berg, Bradley, Cuthbert, & Lang, 2001). Tale studio ha messo in evidenza come le immagini dell'*International Affective Picture System* (il set di immagini standardizzate ideato da Lang per indagare la modulazione affettiva dello startle; Lang, 1995) non fossero adeguate ad indagare il fenomeno durante l'infanzia, poiché non riuscivano (particolarmente nei soggetti di sesso maschile) a determinare l'attivazione dei due stati motivazionali, appetitivo ed aversivo, ipotizzati da Lang (1995). Tuttavia, nonostante la difficoltà nell'individuazione di stimoli dotati di salienza affettiva durante i primi mesi di vita, si ritiene che la presentazione di immagini rimanga una valida metodologia per l'indagine delle modificazioni indotte sulla risposta di startle da parte degli stati emozionali positivi e negativi. Testimonianza della validità di tale metodologia sono i risultati conseguiti da Balaban (1995), la quale adottando un set di immagini adatte ad indagare il fenomeno in infanti di 5 mesi di vita, raffiguranti volti sorridenti, arrabbiati o ad espressione neutra, è riuscita a dimostrare l'esistenza della modulazione affettiva della risposta di startle già a tale età.

Esiste tuttavia una seconda problematica legata all'utilizzo di stimoli nell'indagine della modulazione affettiva della risposta di startle. Normalmente potenziamento e inibizione della risposta di startle vengono utilizzati per indagare la responsività dell'individuo ad una serie di stimoli connotati affettivamente. Spesso indagando tale fenomeno viene utilizzata la terminologia *motivated attention* (Lang, Bradley, & Cuthbert, 1997; Schupp, Cuthbert, Bradley, Hillman, Hamm, & Lang, 2004), poiché l'effetto dell'attenzione rivolta agli stimoli affettivi<sup>3</sup> viene modulato dalla valenza affettiva degli stimoli stessi. Tuttavia questo paradigma sperimentale non è in grado di scindere l'effetto che lo stato attentivo (che è sempre ancorato, cioè rivolto allo stimolo) e lo stato affettivo hanno sulla modificazione della risposta di startle. Poiché infatti sia lo stato attentivo sia lo stato emozionale sono in grado di

---

<sup>3</sup> Come si è visto nel primo capitolo, una condizione di attenzione ancorata determina una facilitazione del riflesso, mentre una condizione di non ancoraggio attentivo determina un'inibizione della risposta.

modificare latenza ed ampiezza della risposta di startle (si veda Capitolo 1), non è possibile, mediante la presentazione di immagini, indagare separatamente il ruolo esercitato da attenzione ed emozione nel fenomeno della modulazione affettiva della risposta di startle. In una serie di esperimenti si è cercato di separare i due effetti, simulando, attraverso compiti di immaginazione, gli stati affettivi esperiti spontaneamente da un individuo (Cook, Hawk, Davis, & Stevenson, 1991; Hawk, Stevenson, & Cook, 1992; Vrana, 1995; Vrana & Lang, 1990; Witvliet & Vrana, 1995). In questi esperimenti veniva chiesto ai soggetti di immaginare delle situazioni caratterizzate da una valenza affettiva positiva e da una valenza affettiva negativa. I risultati ottenuti in questi esperimenti non concordano tuttavia con il pattern classico, caratteristico della modulazione affettiva: ciò che spesso è stato trovato, infatti, è che sia nel caso dell'immaginazione di una situazione positiva sia nel caso dell'immaginazione di una situazione negativa vi era potenziamento della risposta di startle (Bradley, Cuthbert, & Lang, 1995). Sembrerebbe infatti che la risposta durante i compiti di immaginazione sia modificata soprattutto dal grado di arousal associato alla situazione immaginata.

Sebbene il paradigma della presentazione di immagini, attraverso il fenomeno della *motivated attention*, abbia consentito a Lang ed al suo gruppo di ricerca di dimostrare il ruolo della valenza affettiva nella modulazione della risposta di startle, non è in grado di spiegare se gli stati affettivi esibiti spontaneamente da un individuo sono in grado di modificare la risposta di startle.

La funzione principale della presentazione di immagini è la possibilità di elicitare con modalità e tempistiche altamente controllabili stati emozionali a valenza positiva e negativa. Tale metodo riesce innanzitutto ad ovviare all'incapacità di controllare ed inferire attraverso altri indici altrettanto affidabili lo stato emozionale presente in un individuo. L'esibizione delle emozioni è soggetta infatti all'interno di ogni gruppo socio-culturale a quelle che Ekman (Ekman, 1972; Matsumoto, 1993) ha definito *display-rules*, cioè ad alcune norme che regolano implicitamente o esplicitamente l'esibizione delle emozioni. La componente espressivo-motoria delle emozioni non può essere perciò considerata un indice totalmente affidabile dello stato emozionale esperito da un individuo.

Tale problematica tende tuttavia a scomparire man mano che si procede a ritroso nello sviluppo. Le regole di esibizione sociale incominciano ad influenzare l'espressione delle emozioni durante il secondo ed il terzo anno di vita allorquando i bambini incominciano ad esibire un'intenzionalità nell'espressione delle emozioni (in particolare nell'esibizione del sorriso e del pianto) e riescono ad esibire l'emozione appropriata a seconda della situazione e della persona con cui stanno interagendo (Bolzani, Messinger, Yale, & Dondi, 2002; Camras,

Chen, Bakeman, Norris, & Cain, 2006; Rinn, 1984). Tuttavia il comportamento espressivo facciale durante i primi mesi di vita si differenzia ampiamente dal comportamento espressivo nella sua forma adulta, sia dal punto di vista morfologico sia dal punto di vista del significato affettivo (Dondi, 1999; Oster, 1978, 2005). Le medesime espressioni facciali che si ritrovano in individui adulti possono avvenire ad esempio durante i primi mesi di vita in conseguenza a situazioni totalmente differenti (Camras, 1992; Dondi, 1999). Sebbene alcuni autori abbiano teorizzato che sin dalla nascita vi sia una corrispondenza tra espressioni facciali ed emozioni di base (Izard, 1978, 1984), oggi si ritiene che non sia possibile associare un'espressione facciale infantile ad una specifica emozione (Camras, 1991, 1992; Dondi, 1993; Oster, 2005). Grazie tuttavia ad un'ampia serie di studi che ha indagato il comportamento facciale infantile in conseguenza a diverse stimolazioni (acustiche, gustative, etc.) e situazioni (Lilley, Craig, & Grunau, 1997; Mastropieri & Turkewitz, 1999; Rosentein & Oster, 1988; Steiner, 1973,1979), sono stati individuati alcuni indici nell'espressività facciale infantile ritenuti segni incontrovertibili della negatività o positività dello stato affettivo presente in un bambino.

In particolare un'azione facciale fortemente associata nei primi mesi di vita alla negatività è l'agrottamento delle sopracciglia (l'azione che caratterizza maggiormente l'espressione facciale di distress, l'espressione che precede, accompagna e segue il pianto; Dondi, 1999; Oster, 2005). Un'azione facciale strettamente connessa con uno stato positivo è invece il sollevamento degli angoli delle labbra (l'azione che caratterizza maggiormente l'espressione di sorriso) (Oster, 2005). Le azioni muscolari responsabili negli adulti di queste due azioni facciali (in particolare, la contrazione del muscolo corrugatore determina l'agrottamento delle sopracciglia, mentre la contrazione del muscolo zigomatico determina il sollevamento degli angoli delle labbra) sono state indagate, tramite misurazione elettromiografica, in associazione con la modulazione affettiva della risposta di startle. Nello specifico è stato dimostrato che una maggiore attività del muscolo corrugatore si associa con il potenziamento della risposta, mentre una maggiore attività del muscolo zigomatico è associata con l'inibizione della risposta.

Nello studio che ha indagato la modulazione affettiva della risposta di startle in infanti di 3 e di 5 mesi di vita (Dondi, 2008; Franchin, 2006), gli stati emozionali esibiti dagli infanti nel corso della prova sperimentale sono stati derivati da un'analisi del comportamento espressivo-facciale dei bambini. In particolare analizzando le espressioni facciali di sorriso e di distress esibite nel corso della sessione sperimentale dai bambini è stato possibile individuare gli infanti caratterizzati alle due età da uno stato emozionale estremamente negativo e da uno stato emozionale estremamente positivo. Mediante un'analisi delle

espressioni facciali degli infanti è stato perciò possibile indagare gli effetti modulatori esercitati dagli stati emozionali sulla risposta di startle. L'indagine degli indici espressivo-facciali strettamente associati nella prima infanzia ad uno stato affettivo positivo o negativo, potrebbe rivelarsi un'importante metodologia per indagare lo sviluppo della modificazione dello startle dovuta all'attivazione dei due sistemi motivazionali ipotizzati da Lang (1995). L'analisi del comportamento facciale infantile potrebbe consentire di superare alcuni evidenti limiti posti dall'utilizzo di immagini connotate affettivamente nell'indagine della modulazione affettiva dello startle nella prima infanzia. Innanzitutto non sarebbe più necessario chiedersi quali stimoli siano realmente salienti da un punto di vista affettivo nei primi mesi di vita. Inoltre sarebbe possibile indagare separatamente il ruolo dello stato affettivo e dello stato attentivo del bambino sulla modificazione della risposta di startle.

Fulcro dei contributi sperimentali del presente lavoro è l'adozione di un paradigma sperimentale basato sull'utilizzo delle espressioni facciali infantili per l'indagine della modificazione della risposta di startle. In particolare grazie all'applicazione di questo paradigma e all'utilizzo dell'AIMMSS sarà possibile indagare in un primo studio se le risposte di startle elicitate in corrispondenza dell'esibizione spontanea delle espressioni facciali di sorriso e di distress siano modulate affettivamente, in un secondo studio sarà invece possibile studiare il ruolo assunto sia dallo stato attentivo sia dallo stato emozionale (inferito sulla base delle espressioni facciali esibite dai bambini nel corso dell'esperimento) nella modificazione della risposta di startle.

## Studio 1

### **Esibizione spontanea di espressioni facciali di emozione e modificazione della risposta di startle in lattanti di 5 mesi di vita**

#### Introduzione

L'approccio dimensionale costituisce il contesto teorico maggiormente diffuso nella ricerca fisiologica e neurofisiologica sulle emozioni (Borod, 1992, 1993; Burgdoff & Panksepp, 2006; Davidson, 1992, 1993; Heponiemi, Ravaja, Elovainio, Naatanen, & Keltikangas-Jarvinen, 2006; Lang, 1995; Watson et al., 1999; Witvliet & Vrana, 1995). Secondo tale approccio il comportamento affettivo sarebbe strutturato conformemente ad alcune dimensioni di base, in grado di influenzare la direzione e l'intensità di qualsiasi comportamento emozionale (Witvliet & Vrana, 1995). La suddivisione del comportamento affettivo, sulla base della valenza affettiva, in affettività positiva (*positive affect*) ed affettività negativa (*negative affect*), in particolare, sembra costituire il modello dimensionale più ampiamente condiviso nella ricerca neuroscientifica (Burgdof & Panksepp, 2006; Davidson, 1992, 1993). La positività e la negatività del comportamento affettivo costituirebbero le componenti soggettive dell'attività di sistemi biocomportamentali di base (Watson et al., 1999). In particolare la fluttuazione in queste dimensioni rifletterebbe l'opera di due sistemi motivazionali che, attraverso una lunga evoluzione, medierebbero l'uno comportamenti diretti all'approccio e l'altro comportamenti diretti all'evitamento (Schneirla, 1959; Watson et al., 1999).

La bipolarità quale dimensione base del comportamento affettivo è sostenuta da numerose evidenze neuroscientifiche. Davidson (1992, 1993), ad esempio, ha proposto un modello che associa i meccanismi filogeneticamente determinati dell'approccio e dell'evitamento alla valenza affettiva positiva e negativa, specificando precise localizzazioni cerebrali per queste funzioni. L'utilizzo di varie tecniche di neuroimmagine ha infatti dimostrato l'attivazione di specifiche strutture neurali per le emozioni a tono edonico positivo e per le emozioni a tono edonico negativo, sia a livello corticale (Hoshi & Chen, 2002; Lane, Reiman, Bradley, Lang, Ahern, Davidson et al., 1997; Sanchez-Navarro, Martinez-Selva, & Roman, 2005), sia a livello sottocorticale (Le Doux, 1998; Lane et al., 1997; Lang et al., 2000). Allo stesso modo, anche Frijda (1986) considera la struttura bipolare positivo-negativo o piacere-dolore come un meccanismo biologico fondamentale, intrinseco all'organismo, in grado di conferire uno specifico carattere all'esperienza emozionale probabilmente sin dalle prime fasi dello sviluppo (Dondi, 1993). E' possibile riscontrare tale struttura anche nella

concezione relativa alle espressioni facciali espressa dallo stesso autore: esse farebbero riferimento principalmente agli stati motivazionali in grado di generare un rapporto con l'ambiente (Frijda, 1986; Frijda & Tcherkassof, 1997). In particolare, secondo Frijda, le espressioni facciali sarebbero stati di prontezza all'azione che specificano la propensione dell'organismo a stabilire e mantenere (propensione all'approccio) o a cambiare ed evitare (propensione all'evitamento) uno stato interattivo con l'ambiente (Frijda & Tcherkassof, 1997). Sebbene il comportamento facciale infantile abbia delle peculiarità che lo caratterizzano e lo distinguono dal comportamento facciale adulto, anche all'interno del repertorio espressivo-facciale infantile sono state individuate alcune azioni facciali che possono essere ritenute degli indici affidabili attraverso i quali comprendere le disposizioni del bambino, ovvero la negatività o la positività dello stato affettivo dell'infante (Lilley, Craig, & Grunau, 1997; Messinger, 2002; Oster, 2005; Oster & Rosentein, 1988; Steiner, Glaser, Hawilo, & Berridge, 2001). Nello specifico, un'azione facciale fortemente associata nei primi mesi di vita ad uno stato affettivo negativo è l'agrottamento ed abbassamento delle sopracciglia (l'azione che caratterizza maggiormente l'espressione facciale di distress, cioè l'espressione che precede, accompagna e segue l'emissione dei vocalizzi di pianto; Dondi, 1999; Oster, 2005). Un'azione facciale esclusivamente connessa con uno stato positivo è invece il sollevamento degli angoli delle labbra (la principale componente dell'espressione di sorriso; Oster, 2005).

Una delle ipotesi teoriche maggiormente diffuse nell'indagine neurofisiologica del comportamento affettivo è la *Motivational Priming Hypothesis* proposta da Lang (Lang, 1995; Lang et al., 1998; Lang et al., 2000). Secondo tale ipotesi le emozioni sarebbero disposizioni all'azione e rifletterebero l'attivazione di strutture e vie neurali relativamente a due sistemi motivazionali: il sistema motivazionale appetitivo (a cui sono collegati comportamenti d'alimentazione, sessuali e di cura della prole) e il sistema motivazionale aversivo (a cui sono collegati comportamenti protettivi, di fuga e di difesa). La diffusione di tale ipotesi si fonda prevalentemente sui dati che hanno mostrato il ruolo modulatore delle emozioni sulla risposta di startle. Lang e i suoi collaboratori hanno infatti dimostrato (Bradley, Codispoti, Cuthbert, & Lang, 2001; Bradley, Codispoti, & Lang, 2006; Bradley, Cuthbert, & Lang, 1993; Codispoti, Bradley, & Lang, 2001; Cuthbert et al., 1996; Lang, 1995) che lo startle si manifesta più rapidamente, cioè con una latenza minore e con una maggiore intensità, quando il sistema motivazionale aversivo è attivato (quando cioè lo stato emotivo è caratterizzato da tono edonico negativo), mentre risulta inibito oppure ridotto in ampiezza quando è attivato il sistema appetitivo (quando cioè lo stato emotivo è caratterizzato da tono edonico positivo).



Grazie all'utilizzo dello *startle probe paradigm*, un paradigma sperimentale che si basa sulla modulazione affettiva della risposta di startle, Balaban (1995) è riuscita a dimostrare che a 5 mesi di età gli infanti sono in grado di discriminare e di comprendere il significato affettivo di alcune espressioni facciali, inibendo la risposta durante la visione di immagini raffiguranti volti sorridenti (a causa dell'attivazione del sistema motivazionale appetitivo) e potenziando la risposta durante la visione di volti arrabbiati (a causa dell'attivazione del sistema motivazionale aversivo). In un recente studio (Dondi, 2008; Franchin, 2006) è stato inoltre possibile dimostrare la presenza della modulazione affettiva in infanti di 3 e di 5 mesi di vita. Grazie all'analisi delle espressioni facciali di sorriso e di distress esibite dagli infanti nel corso della prova sperimentale, è stato possibile individuare i soggetti caratterizzati da uno stato emozionale estremamente negativo (in base ad una netta prevalenza di espressioni facciali di distress) e da uno stato emozionale estremamente positivo (in base ad una netta prevalenza di espressioni facciali di sorriso). Le analisi delle risposte di startle elicitate in questi due gruppi di bambini (negativi e positivi) hanno dimostrato come la magnitudine di infanti di 5 mesi caratterizzati da una netta prevalenza di espressioni facciali di distress sia potenziata rispetto agli infanti caratterizzati da una netta prevalenza di espressioni facciali di sorriso.

Scopo del presente esperimento è l'indagine della modulazione affettiva della risposta di startle elicitata in concomitanza dell'esibizione spontanea da parte di infanti di 5 mesi di vita di espressioni facciali positive (sorriso) e di espressioni facciali negative (distress). Sebbene infatti sorriso e distress possano essere considerate due espressioni facciali peculiari di uno stato emozionale a tono edonico positivo e negativo nella prima infanzia, nessuno studio sino ad ora ha mai indagato la modulazione della risposta di startle (cioè l'attivazione dei due sistemi motivazionali ipotizzati da Lang, 1995) proprio in concomitanza dell'esibizione di tali espressioni facciali. Lo startle elicitato in concomitanza delle espressioni facciali di emozioni potrebbe diventare un marcatore per indagare, nel corso delle primissime fasi dello sviluppo, la relazione tra espressioni facciali e attivazione dei sistemi motivazionali che sostengono le emozioni. Questo esperimento si pone come la prima esplorazione della modulazione affettiva della risposta di startle elicitata in corrispondenza dell'esibizione spontanea di espressioni facciali non solo nell'infante, ma nell'essere umano in generale. Mediante l'utilizzo dell'AIMMSS, l'apparato sperimentale che permette la misurazione non invasiva dello startle, è stato possibile misurare latenza e magnitudine della risposta motoria globale di startle esibita dagli infanti in seguito ad una stimolazione acustica. Inoltre, l'intensità del riflesso di ammiccamento palpebrale (la prima componente della risposta di startle a comparire in seguito alla stimolazione) è stata codificata mediante

l'utilizzo dell'*EBS Scale* di Essex et al. (2003), un sistema di codifica video in grado di codificare, su una scala a sette punti, l'intensità della contrazione del muscolo *orbicularis oculi*.

Mentre il bambino interagiva liberamente con il genitore, lo sperimentatore presentava 36 stimoli acustici in grado di elicitare lo startle proprio in corrispondenza dell'esibizione spontanea da parte dell'infante di espressioni facciali di sorriso, di distress e di apparenti manifestazioni di rilassamento dei muscoli facciali (espressioni neutre). Le risposte esibite durante queste ultime condizioni sono state utilizzate come condizioni di controllo. Il confronto tra le risposte elicitate in corrispondenza delle espressioni facciali di emozione e le risposte elicitate in corrispondenza delle condizioni di controllo avrebbe potuto indicare la presenza di una modulazione affettiva esercitata dalla espressione facciale sulla risposta.

Generalmente la modulazione affettiva della risposta viene indagata mediante la presentazione di immagini connotate affettivamente (Bradley, Cuthbert, & Lang, 1993; Lang, 1995; Waters, Lipp, & Spence, 2005). La modulazione viene infatti derivata dal confronto tra le risposte elicitate nel corso della visione di immagini a valenza positiva o negativa e le risposte elicitate in corrispondenza di immagini a valenza neutra. Al fine di controllare l'effetto abituaione della risposta (che determina una diminuzione della risposta al continuo ripetersi delle stimolazioni; Davis & File, 1984; Christoffersen, 1997; Koch, 1999) tale paradigma sperimentale prevede inoltre che la presentazione delle immagini positive, negative, e neutre venga controbilanciata nel corso delle prove (Balaban, 1995; Spangler, Emlinger, Meinhardt, & Hamm, 2001). Poiché nel caso dell'indagine di espressioni esibite spontaneamente dagli infanti non è possibile controbilanciare le prove, il confronto tra le espressioni neutre e le espressioni di emozione potrebbe essere influenzato dall'effetto abituaione ed in particolare dalla sequenza temporale con cui le espressioni appaiono sul volto del bambino. Tale effetto è stato controllato confrontando le risposte elicitate in corrispondenza di sorriso e distress solamente con le risposte elicitate in corrispondenza di espressioni neutre avvenute in stretta concomitanza temporale con le espressioni di emozione. In particolare sono state selezionate solamente le espressioni neutre che erano avvenute immediatamente prima ed immediatamente dopo ciascuna espressione di emozione. Le espressioni facciali esibite dagli infanti sono state analizzate *offline* da due codificatori indipendenti mediante il sistema di codifica Baby FACS (Oster, in corso di stampa).

In base ai dati discussi precedentemente (Balaban 1995; Dondi, 2008; Franchin, 2006; Oster, 2005), si può ipotizzare che le espressioni facciali positive e negative esibite spontaneamente da parte di infanti di 5 mesi di vita esercitino delle influenze modulatorie

sulla risposta di startle. In particolare poiché il sorriso è ritenuto un'espressione fortemente associata nei primi mesi di vita ad uno stato affettivo positivo (attivazione del sistema motivazionale appetitivo), si può ipotizzare che la risposta di startle elicitata nel corso della sua esibizione risulti inibita (maggiore latenza, minore ampiezza) rispetto ad una risposta elicitata nel corso di un'espressione facciale neutra. Al contrario, poiché si ritiene che l'espressione facciale di distress sia fortemente associata nei primi mesi di vita con uno stato affettivo negativo (attivazione del sistema motivazionale aversivo), si può ipotizzare che la risposta di startle elicitata nel corso della sua esibizione risulti potenziata (minore latenza, maggiore ampiezza) rispetto ad una risposta elicitata nel corso di un'espressione facciale neutra.

## Metodo

### *Partecipanti*

Venti lattanti (8 femmine) sani e nati a termine di circa 19 ( $\pm$  1) settimane sono stati coinvolti nell'esperimento. Il reclutamento dei soggetti è avvenuto utilizzando le liste dell'anagrafe del comune di Padova, inviando una lettera ai genitori, e chiedendo loro la disponibilità a collaborare. In seguito i genitori sono stati contattati telefonicamente per fissare, se disponibili, l'appuntamento. L'esperimento, condotto presso il Dipartimento di Psicologia dello Sviluppo e della Socializzazione (DPSS) dell'Università degli Studi di Padova, aveva inizio solo dopo che il genitore aveva letto e firmato il consenso informato. Tutte le codifiche e le analisi dei dati sono state invece condotte presso l'Early Infancy Lab dell'Università degli Studi di Ferrara. Il trattamento di tutti i soggetti è avvenuto nel pieno rispetto dei principi etici dell'APA (*American Psychological Association*).

### *Misurazioni della risposta di startle*

*Automated Infant Motor Movement Startle Seat (AIMMSS)*. Le risposte di startle sono state registrate mediante l'utilizzo dell'*Automated Infant Motor Movement Startle Seat (AIMMSS)*. Tale strumentazione, si compone di un seggiolino per infanti solidale a quattro balestre di acciaio ancorate ad una testa metallica, su cui sono montati dei sensori estensimetrici che permettono di registrare delle tensioni elettriche proporzionali alle variazioni di sforzo applicato sul seggiolino stesso. Tale sistema si basa perciò sull'utilizzo di alcuni sensori estensimetrici che, posizionati sotto il seggiolino, sono in grado di trasdurre in potenziale elettrico le deformazioni meccaniche conseguenti ai movimenti di startle. I segnali

elettrici, trasdotti ai capi di un opportuno sistema di amplificazione e scalati in Volts, sono acquisiti da una scheda di input analogico montata nello slot disponibile di un PC portatile. Dal lato software, un ambiente di programmazione grafica ad hoc (National Instruments™, Labview Vers. 6.1) esegue le operazioni di gestione e controllo della scheda, nonché l'acquisizione e le memorizzazioni su file dei dati provenienti dalla stessa, implementati da programmi appositamente sviluppati.

Una particolarità della strumentazione è la capacità di collocare il movimento nello spazio, sulla base dei sensori montati sulle quattro balestre d'acciaio. Grazie a questi, è possibile ottenere informazioni su quattro canali singoli (avanti X1, dietro X2, destra Y2 e sinistra Y1), sulla differenza dei canali su uno stesso asse (avanti-dietro X1-X2 e destra-sinistra Y2-Y1) ed una somma totale del movimento su tutti i canali.

In un ambiente di programmazione Labview sono state quindi calcolate latenza e magnitudine (una misura dell'ampiezza che include il valore 0 per le prove senza risposta; Berg & Balaban, 1999; Meincke et al., 2005) dei segnali registrati. In particolare, nel presente esperimento, sono stati analizzati i segnali provenienti dal canale somma dello strumento, che racchiudeva le informazioni relative ai movimenti effettuati dal bambino nelle quattro direzioni dello spazio. La latenza veniva definita come il tempo intercorrente tra l'onset dello *startle stimulus* e l'inizio della risposta di startle (Berg & Balaban, 1999). L'ampiezza di startle era definita come il voltaggio compreso tra il picco massimo dell'evento e la valle immediatamente precedente, entro una finestra temporale di 600 ms dall'onset dello *startle stimulus*.

*Eye-Blink Strength (EBS) Scale.* Nel corso dell'esperimento il volto del bambino veniva videoripreso con una telecamera digitale posta su un treppiede. L'altezza del treppiede e l'angolo di ripresa della videocamera venivano costantemente monitorati al fine di ottenere una corretta visuale (primo piano) del volto e degli occhi del bambino. La presentazione degli stimoli veniva marcata mediante un led rosso al fine di consentire un'identificazione più semplice degli stimoli in fase di codifica. Le codifiche del comportamento facciale dei soggetti sono state effettuate *offline* mediante il software Adobe Premiere Pro.

Per misurare l'intensità dell'ammicciamento palpebrale conseguente allo *startle stimulus* è stato utilizzato il sistema di codifica *EBS Scale* (Essex et al., 2005). L'intensità della contrazione muscolare, in particolare, veniva misurata su una scala a sette punti (da bassa ad alta) da due codificatori indipendenti, precedentemente addestrati all'utilizzo del sistema di codifica. Tutte le codifiche sono state condotte analizzando la registrazione a velocità normale e fotogramma per fotogramma. Innanzitutto veniva stabilito dal codificatore

il livello normale di apertura dell'occhio del bambino prima della presentazione dello stimolo. In seguito, sulla base del livello normale di apertura dell'occhio, il codificatore assegnava un punteggio da 1 (nessun movimento muscolare) a 7 (*blink* completo ed intenso) all'intensità dell'*eyeblick* conseguente allo *startle stimulus*. In particolare, la scala prevedeva la seguente classificazione dei livelli di chiusura dell'occhio: 1. assenza di movimenti muscolari dell'occhio; 2. piccolo accenno di chiusura (*small eyelid flutter*) della palpebra; 3. la palpebra copre il primo quarto dell'occhio; 4. la palpebra copre metà occhio; 5. la palpebra copre tre quarti dell'occhio; 6. chiusura completa dell'occhio, con contrazione muscolare leggera (*fully closed, soft eyeblink*); 7. chiusura completa dell'occhio, con contrazione muscolare forte (*full hard blink*).



Figura 3.1. Esempio di riflesso di ammiccamento. La prima immagine raffigura il momento della stimolazione acustica, la seconda immagine raffigura l'onset (inizio) del riflesso, mentre la terza immagine raffigura l'apex (apice) del riflesso.

È stato in seguito calcolato l'accordo tra i codificatori relativamente alle codifiche effettuate sull'intensità di chiusura dell'occhio. L'affidabilità tra codificatori ( $k$  di Cohen) è risultata alta ( $k = .85$ ).

### *Codifica delle espressioni facciali*

Sulla base della videoregistrazione del volto del bambino, e grazie all'utilizzo del software Adobe Premiere Pro, due codificatori indipendenti, esperti nell'utilizzo dei sistemi di codifica FACS e Baby FACS, hanno codificato il comportamento facciale degli infanti in concomitanza alla somministrazione degli stimoli acustici (accensione del led rosso). In particolare, allo scopo di rilevare le espressioni positive (sorriso), negative (distress) e di controllo (rilassamento muscolare) presenti sul volto del bambino, l'attività facciale è stata codificata seguendo le indicazioni contenute nel Baby FACS (Oster, in corso di stampa).

In particolare, i due codificatori avevano il compito di stabilire, attraverso un'analisi *frame-by-frame* relativa alla videoregistrazione del primo piano del volto, la presenza di un

sorriso, di un'espressione di distress o di una condizione di rilassamento muscolare del volto al momento della stimolazione sonora.

Per identificare il sorriso era necessaria la rilevazione dell'attività del muscolo zigomatico maggiore (*zygomaticus major*) (AU12, *Lip corner puller*), che solleva obliquamente verso l'alto gli angoli della bocca, e la pelle in prossimità della porzione mediana inferiore della linea nasolabiale, approfondisce la linea nasolabiale facendola diventare più evidente e solleva il triangolo infraorbitale (porzione di guancia delimitata dalla linea infraorbitale e dalla piega nasolabiale), rendendo le guance più prominenti (Dondi et al., 2008). Questa azione si poteva presentare sul volto del bambino isolatamente o in combinazione con l'attività del muscolo orbicolare dell'occhio (*orbicularis oculi*) (AU6, *Cheek raiser*) (vedi Figura 3.2).



Figura 3.2. Esempio di espressione di sorriso. In questa immagine è evidente la contrazione dei muscoli *zygomaticus major* (AU12) e *orbicularis oculi* (AU6).

Per codificare l'espressione di distress era necessaria la presenza dell'*Action Unit 4* (AU4), che identifica, nel sistema di codifica Baby FACS, la contrazione del muscolo *procerus*. Questa azione si poteva presentare isolatamente o in combinazione con AU3, l'AU1 o l'AU2 (v. Figura 3.3). L'AU 4 è l'azione facciale che, secondo Oster (2005), identifica più chiaramente sul volto del bambino una condizione emozionale a tono edonico negativo. Nel FACS (Ekman & Friesen, 2002) l'AU4 designa l'azione che unisce tre distinti muscoli: il *depressor supercilii*, che abbassa la porzione mediana esterna delle sopracciglia; il *corrugator supercilii*, che tira la parte interna delle sopracciglia verso il basso (*knitting*) e il *procerus* (*depressor glabellae*), che abbassa gli angoli interni delle sopracciglia e aggrota la pelle della glabella (*knotting*). Il *depressor supercilii* e il *procerus* (*depressor glabellae*) producono azioni, negli infanti, simili a quelle prodotte negli adulti. Nel Baby FACS (Oster, in corso di stampa) si ha, tuttavia, una netta distinzione tra *knitting* (AU3) e *knotting* (AU4) dovuta al

fatto che, secondo Oster, sul volto del bambino l'azione del *knitting* è legata alla contrazione del muscolo *corrugator*, mentre l'azione del *knotting* è legata alla contrazione del muscolo *procerus*. Secondo il Baby FACS (Oster, in corso di stampa) la combinazione AU3+AU4 è perciò dovuta all'azione congiunta del *knitting* e del *knotting*, con diversi gradi di abbassamento delle sopracciglia mediane e laterali.



Figura 3.3. Esempio di espressione di distress. Sono evidenti sulla fronte del bambino l'azione del muscolo *procerus* (AU4) che produce l'abbassamento degli angoli interni delle sopracciglia e il corrugamento della glabella (*knotting*), e l'azione del muscolo *corrugator* (AU3), che determina l'abbassamento delle sopracciglia verso il basso (*knitting*).

Il grado di accordo tra codificatori è stato calcolato sul 25% del campione totale sulla base dell'identificazione delle AUs al momento della stimolazione acustica. L'affidabilità tra codificatori (k di Cohen) è risultata essere alta (k = .95).

### *Procedura*

Gli infanti venivano sistemati sul seggiolino (AIMMSS) al cui fianco era seduto un genitore, il quale poteva interagire liberamente con il bambino. All'interno del laboratorio veniva creato un ambiente privo di distrattori, grazie ad alcune tende che isolavano madre e bambino dallo spazio circostante.

L'esperimento prevedeva la presentazione di 36 stimoli acustici. Per l'elicitazione del riflesso venivano utilizzati brevi (50 ms) picchi (*burst*) di rumore bianco ad un'intensità medio-alta (95 dB) (Balaban, 1995; Berg & Balaban, 1999). Le stimolazioni venivano presentate senza alcun preavviso da parte dello sperimentatore. Inoltre, allo scopo di limitare la presenza di artefatti dovuti all'attività motoria spontanea dei bambini, le stimolazioni

venivano somministrate approfittando soprattutto dei momenti in cui il bambino non manifestava un'intensa attività.

Lo sperimentatore somministrava gli stimoli acustici in corrispondenza di tre condizioni specifiche che si presentavano nel corso dell'interazione con il genitore: esibizione spontanea da parte dell'infante di espressioni facciali di sorriso; esibizione spontanea di espressioni facciali di distress; apparente manifestazione di rilassamento dei muscoli facciali (espressioni neutre). Per ciascuno dei partecipanti alla ricerca, sono state ritenute valide le prove in cui l'infante presentava, in corrispondenza della somministrazione dello stimolo acustico, le tre condizioni precedentemente descritte. Le caratteristiche della risposta di startle manifestate dai lattanti durante le espressioni neutre sono state utilizzate come condizione di controllo. In particolare, in fase di analisi dei dati, sono state selezionate solamente le condizioni di controllo avvenute immediatamente prima ed immediatamente dopo ciascuna prova valida (dove cioè lo stimolo era stato correttamente somministrato durante l'esibizione del sorriso o del distress).

#### *Analisi dei dati*

Per quanto riguarda i confronti statistici eseguiti sui dati ricavati dall'AIMMSS, per ciascuna prova valida (per ogni prova, cioè, in cui lo stimolo era stato correttamente somministrato in concomitanza di un'espressione di sorriso o di distress), sono state calcolate latenza e magnitudine della risposta. Sono state, inoltre, calcolate latenza e magnitudine della risposta nella condizione di controllo precedente e successiva a ciascuna prova valida relativa alle due espressioni facciali. Questa scelta ha consentito di indagare l'inibizione o il potenziamento della risposta di startle elicitata durante l'esibizione dell'espressione di sorriso o di distress rispetto alle condizioni di controllo che avvenivano in stretta concomitanza con le espressioni facciali indagate. I dati sono stati in particolare analizzati mediante un'analisi per Eventi. Un'analisi *probe-by-probe* consentiva infatti di confrontare direttamente i dati grezzi (Essex et al., 2003), analizzando di volta in volta il rapporto specifico esistente tra l'espressione facciale (sorriso o distress) e le condizioni neutre concomitanti. La risposta elicitata in corrispondenza dell'espressione facciale (sorriso o distress), in particolare, è stata confrontata con una media delle risposte elicitate in corrispondenza dell'evento neutro precedente e dell'evento neutro successivo. Le analisi statistiche sono state condotte con un'analisi della varianza (ANOVA) a misure ripetute (SPSS for Windows v12.0, Chicago, IL).

Tutte le analisi statistiche effettuate su latenza e magnitudine registrate dall'AIMMSS sono state condotte anche sui valori ottenuti dalla codifica dell'ammicciamento palpebrale



effettuata con l'*EBS Scale*, cioè i punteggi attribuiti all'intensità di chiusura dell'occhio in seguito alla stimolazione sonora.

## Risultati

Solamente i bambini che in concomitanza con la presentazione dello stimolo di startle avevano esibito almeno un'espressione di sorriso ed un'espressione di distress (N = 12; 8 maschi, 4 femmine) sono stati selezionati per il trattamento statistico dei dati. Inoltre al fine di effettuare i confronti statistici programmati, ciascuna prova in cui lo stimolo di startle era stato presentato in concomitanza con un'espressione di sorriso o di distress doveva avere almeno una condizione di controllo precedente e/o una condizione di controllo successiva. Sono state perciò eliminate le prove valide che non soddisfacevano questa condizione. Sulla base di tale selezione, sono stati individuati 34 sorrisi e 20 distress che avevano almeno una condizione di controllo precedente o una condizione di controllo successiva.

### *AIMMSS*

Per quanto riguarda la magnitudine della risposta registrata dall'*AIMMSS*, i confronti effettuati tra l'espressione facciale (sorriso o distress) e la condizione di controllo (media della condizione precedente e successiva), non hanno messo in evidenza alcun risultato significativo, non è stata cioè trovata né inibizione né potenziamento nell'intensità delle risposte elicitate durante l'esibizione delle due espressioni facciali (sorriso e distress).

Tuttavia, grazie ad un'ispezione dei valori medi della magnitudine delle risposte registrate in corrispondenza dell'esibizione delle due espressioni facciali (sorriso e distress) e delle rispettive condizioni di controllo precedenti e successive (v. Tabella 3.1), è possibile notare come nelle condizioni neutre successive alle espressioni di sorriso non sia stata registrata nessuna risposta globale di startle (il valore medio della magnitudine è infatti pari a 0), mentre, al contrario, l'intensità della risposta nelle condizioni neutre successive alle espressioni di distress aumenti. Tale andamento dei dati è stato approfondito mediante un'analisi della varianza a misure ripetute, pianificando, in particolare, dei confronti a coppie: PRE vs. EXP; PRE vs. SUCC; EXP vs. SUCC. Le tre diverse coppie sono state confrontate in tre distinte ANOVA a misure ripetute con un disegno 2 x 2, dove il TEMPO (PRE vs. EXP; PRE vs. SUCC; EXP vs. SUCC) era il fattore *within* e dove l'ESPRESSIONE FACCIALE (sorriso, distress) era il fattore *between*. Le analisi non hanno messo in evidenza alcun effetto principale significativo. Nell'ANOVA relativa al confronto pianificato espressione facciale di emozione vs. condizione di controllo successiva (EXP vs. SUCC), le analisi hanno rilevato un

effetto interazione significativo tra il fattore *within* TEMPO ed il fattore *between* ESPRESSIONE FACCIALE (sorriso vs. distress),  $F(1, 41) = 4.367, p = .043$ . Le analisi relative agli altri confronti non hanno messo in evidenza alcun risultato significativo.

Tabella 3.1

*Latenza e Magnitudine registrate dall'AIMMSS in concomitanza delle espressioni facciali di sorriso e di distress e delle corrispettive condizioni di controllo*

			<b>Controllo Precedente (PRE)</b>	<b>Espressione (EXP)</b>	<b>Controllo Successivo (POST)</b>	<b>Controllo (MEDIA)</b>
<b>SORRISO</b>	<b>Latenza (ms)</b>	media	150,50	122,20	/	150,50
		DS	2,12	48,19	/	2,12
	<b>Magnitudine (V)</b>	media	,0017	,0031	0	,0005
		DS	,0063	,0094	0	,0025
<b>DISTRESS</b>	<b>Latenza (ms)</b>	media	147,33	104	140	148,37
		DS	103,05	/	122,23	98,51
	<b>Magnitudine (V)</b>	media	,0008	,0009	,0060	,0030
		DS	,0023	,0042	,0189	,0095

*Nota.* La Tabella indica i valori medi e le deviazioni standard (DS) della latenza e della magnitudine registrate dall'AIMMSS, rispettivamente, nelle prime due righe, per l'espressione di sorriso e, nelle ultime due righe, per l'espressione di distress. La Tabella riporta, inoltre, i valori relativi alle condizioni di controllo precedenti (PRE), successive (POST) e la media delle condizioni precedenti e successive (MEDIA), relative alle due espressioni facciali.

L'effetto interazione è evidente in Figura 3.4 che mostra un andamento modulatore di tipo facilitatorio tra l'espressione di distress e la sua condizione di controllo successiva, e un andamento modulatore di tipo inibitorio tra l'espressione di sorriso e la sua condizione di controllo successiva.

Per quanto riguarda la latenza della risposta registrata dall'AIMMSS, le analisi statistiche condotte non hanno messo in evidenza alcun risultato significativo.

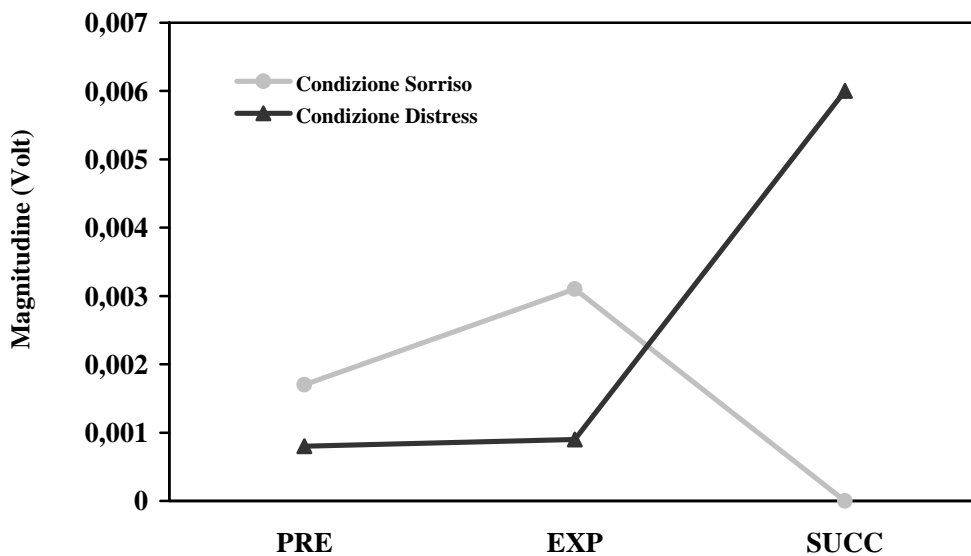


Figura 3.4. Il grafico presenta in ascissa la condizione di controllo precedente (PRE), l'espressione facciale (EXP) e la condizione di controllo successiva (POST), mentre in ordinata è rappresentata la magnitudine della risposta di startle espressa in Volts. La linea grigia rappresenta l'andamento dei dati nella condizione di sorriso, mentre la linea nera rappresenta l'andamento dei dati nella condizione facciale di distress.

### *EBS Scale*

Per quanto riguarda l'intensità dell'*eyeblick* codificato mediante l'utilizzo dell'*EBS Scale*, le analisi condotte non hanno messo in evidenza alcun effetto modulatore presente nelle risposte di startle elicitate in corrispondenza dell'esibizione delle due espressioni facciali indagate rispetto alle relative condizioni di controllo.

Nuovamente, l'ispezione delle medie dei punteggi dell'*EBS Scale* relativi alle due espressioni facciali e alle condizioni di controllo precedenti e successive rivela un differente rapporto modulatore tra le due espressioni facciali di emozione e le rispettive condizioni di controllo successive (v. Tabella 3.2). Lo stesso tipo di analisi effettuate sulla magnitudine della risposta, ha rilevato, anche nei punteggi relativi all'intensità dell'*eyeblick*, solamente nell'ANOVA relativa al confronto pianificato espressione facciale di emozione vs. condizione di controllo successiva (EXP vs. SUCC) un effetto interazione significativo tra il fattore *within* TEMPO ed il fattore *between* ESPRESSIONE FACCIALE (sorriso vs. distress),  $F(1, 32) = 4.680, p = .038$ .

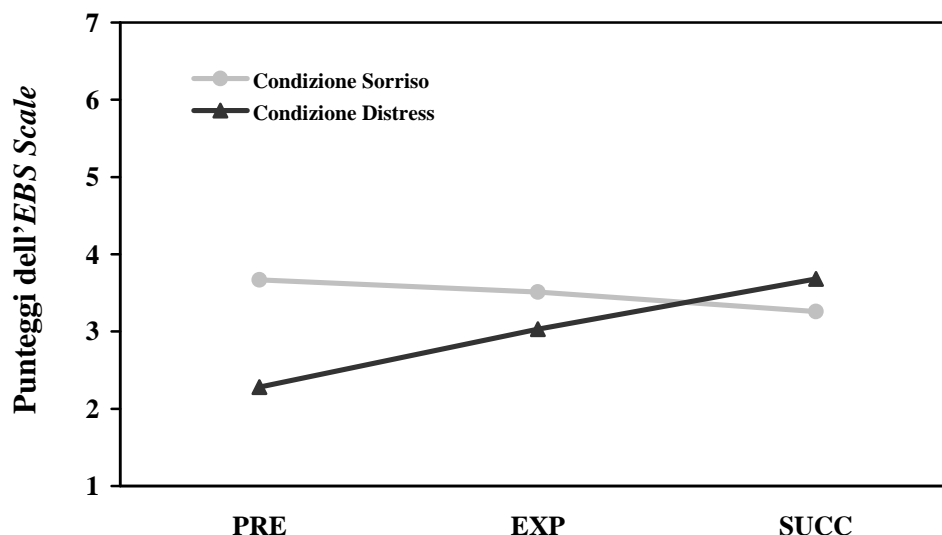
Tabella 3.2

*Intensità media dell'ammiccamento palpebrale codificata utilizzando l'EBS Scale in concomitanza delle espressioni facciali di sorriso, di distress e delle corrispettive condizioni di controllo*

		<b>Controllo Precedente (PRE)</b>	<b>Espressione (EXP)</b>	<b>Controllo Successivo (POST)</b>	<b>Controllo (MEDIA)</b>
<b>SORRISO</b>	media	3,67	3,51	3,26	3,32
	DS	2,13	2,33	2,44	2,17
<b>DISTRESS</b>	media	2,78	3,03	3,68	3,48
	DS	2,15	2,46	2,15	1,94

*Nota.* La Tabella indica la numerosità (N), i valori medi e le deviazioni standard (DS) dell'intensità dell'ammiccamento palpebrale codificata utilizzando l'EBS Scale, rispettivamente, nella prima riga, per l'espressione di sorriso e, nella seconda riga, per l'espressione di distress. La Tabella riporta, inoltre, i valori relativi alle condizioni di controllo precedenti (PRE), successive (POST) e la media delle condizioni precedenti e successive (MEDIA), relative alle due espressioni facciali.

Anche nelle misurazioni effettuate mediante l'EBS Scale, i dati evidenziano un andamento modulatore di tipo facilitatorio tra l'espressione di distress e la sua condizione di controllo successiva, e un andamento modulatore di tipo inibitorio tra l'espressione di sorriso e la sua condizione di controllo successiva (Figura 3.5).



*Figura 3.5.* Il grafico presenta in ascissa la condizione di controllo precedente (PRE), l'espressione facciale (EXP) e la condizione di controllo successiva (POST), mentre in ordinata sono rappresentati i punteggi dell'intensità del riflesso di ammiccamento palpebrale codificati con l'EBS Scale. La linea grigia rappresenta l'andamento dei dati nella condizione di sorriso, mentre la linea nera rappresenta l'andamento dei dati nella condizione facciale di distress.

## Discussione

Scopo del presente esperimento era indagare la modulazione affettiva della risposta di startle elicitata in concomitanza all'esibizione spontanea delle espressioni facciali di sorriso e di distress in infanti di 5 mesi di vita. Nello specifico, in linea con la *Motivational Priming Hypothesis* formulata da Lang (1995), si ipotizzava che se l'esibizione spontanea di un'espressione di sorriso fosse stata accompagnata dall'attività del sistema motivazionale appetitivo, la risposta di startle elicitata nel corso della sua esibizione sarebbe dovuta risultare inibita; allo stesso modo, se l'esibizione spontanea di un'espressione di distress fosse stata accompagnata dall'attività del sistema motivazionale aversivo, la risposta di startle elicitata nel corso della sua esibizione sarebbe dovuta essere potenziata. Grazie ad un confronto tra le risposte elicitate durante l'esibizione delle espressioni facciali di sorriso e di distress, e le risposte elicitate durante l'esibizione di espressioni facciali neutre (caratterizzate da un rilassamento muscolare) avvenute in stretta concomitanza temporale con le espressioni indagate, è stato possibile indagare la modulazione affettiva della risposta di startle.

Sulla base delle analisi effettuate e dei risultati ottenuti non è tuttavia possibile affermare la presenza di una modulazione affettiva delle risposte di startle elicitate in concomitanza con l'esibizione spontanea delle espressioni facciali di sorriso e di distress. In particolare, i confronti effettuati tra le risposte di startle elicitate durante le due espressioni facciali e le risposte elicitate durante le condizioni di controllo avvenute in stretta concomitanza temporale con le espressioni facciali, non hanno evidenziato né un'inibizione né un potenziamento della risposta. Questo risultato è emerso sia dai dati ottenuti tramite la registrazione effettuata con l'AIMMSS, sia dai dati ricavati dalla codifica dell'intensità dell'*eyeblick* effettuata con l'*EBS Scale*. Sebbene sia in un precedente esperimento (Dondi, 2008; Franchin, 2006) sia nello studio di Balaban (1995) fosse stata dimostrata la presenza della modulazione affettiva della risposta di startle già a 5 mesi di vita, sembrerebbe che le espressioni facciali caratterizzate da un tono edonico positivo (sorriso) e da un tono edonico negativo (distress) non determinino a tale età una modificazione della risposta elicitata nel corso della loro esibizione.

I risultati ottenuti hanno tuttavia evidenziato un effetto inaspettato rispetto alle ipotesi iniziali: le risposte elicitate durante le espressioni neutre immediatamente successive all'esibizione delle due espressioni facciali, sono caratterizzate da due andamenti modulatori differenti, a seconda del fatto che seguano un'espressione facciale di sorriso o un'espressione facciale di distress. Tale effetto è emerso sia dai dati relativi alla magnitudine dello startle

derivati dalle registrazioni effettuate con l'AIMMSS, sia dai dati ricavati dalla codifica dell'intensità dell'*eyeblick* effettuata con l'*EBS Scale*. Mentre l'andamento modulatorio esistente tra le risposte elicitate successivamente alle espressioni facciali di distress e le risposte elicitate durante le espressioni di distress è di tipo facilitatorio (i dati hanno evidenziato infatti un incremento dell'intensità della risposta nelle condizioni neutre successive alle espressioni facciali distress), l'andamento modulatorio rilevato tra le condizioni di controllo successive al sorriso e le espressioni di sorriso è di tipo inibitorio (i dati hanno mostrato una evidente diminuzione dell'intensità della risposta nelle condizioni neutre successive alle espressioni di sorriso).

È quindi possibile ipotizzare che la condizione interveniente "espressione facciale" (agendo come una sorta di *priming* motivazionale) sarebbe in grado di diversificare, a seconda del suo carattere negativo (distress) o positivo (sorriso), l'intensità della risposta di startle elicitata immediatamente dopo la sua esibizione: se dopo un'espressione di distress è stato registrato un incremento di intensità della risposta, dopo l'esibizione di un'espressione di sorriso è stata invece rilevata una diminuzione dell'intensità della risposta. L'ipotesi che le espressioni facciali positive e negative possano esercitare un effetto modulatorio sulla risposta di startle elicitata successivamente alla loro esibizione, è inoltre avvalorata dai dati che hanno dimostrato un potenziamento della risposta in lattanti di 5 mesi caratterizzati da una prevalente esibizione di espressioni di distress rispetto agli infanti caratterizzati da una prevalente esibizione di sorrisi (Dondi, 2008; Franchin, 2006). Sebbene in tale studio non fossero state indagate le risposte elicitate in corrispondenza dell'esibizione di sorriso e distress, era stato comunque evidenziato che le risposte di startle esibite dai due gruppi di bambini subivano una modificazione in base al carattere negativo o positivo delle espressioni esibite prevalentemente dagli infanti durante l'intera sessione sperimentale. Se sulla base dei dati del precedente studio è possibile avanzare l'ipotesi che l'esibizione delle espressioni facciali di sorriso e di distress si accompagni a 5 mesi all'attività dei sistemi motivazionali ipotizzati da Lang (1995), sulla base dei dati del presente studio si potrebbe ipotizzare che l'esibizione di un'espressione facciale positiva o negativa coincida con l'attivazione di un sistema motivazionale, la cui attività si esplicherebbe sulle risposte di startle elicitate successivamente a tale attivazione.

Riassumendo, il presente esperimento ha indagato, per la prima volta in letteratura, il fenomeno della modulazione affettiva dello startle elicitato in corrispondenza dell'esibizione di espressioni facciali di sorriso e di distress in infanti di 5 mesi d'età. Sebbene non sia stata trovata una modulazione dello startle elicitato in concomitanza dell'esibizione delle due

espressioni facciali, si può affermare che sorriso e distress determinano una differente influenza modulatoria sull'intensità della risposta elicitata successivamente alla loro esibizione. Naturalmente questo fenomeno, essendo stato messo in evidenza per la prima volta nel presente studio, necessita di ulteriori approfondimenti. Per esempio, sarà necessario in futuro aumentare la numerosità del campione per avere a disposizione un maggior numero di prove su cui indagare questi nuovi interessanti effetti modulatori esercitati dalle espressioni facciali di sorriso e di distress sulla risposta di startle in lattanti di 5 mesi di vita.





## Studio 2

### Stati attentivi e stati affettivi nella modificazione della risposta di startle in bambini di 3 e 5 mesi di vita

#### Introduzione

La risposta di startle è un semplice riflesso di origine troncoencefalica che può essere elicitato da brevi ed improvvisi stimoli di diversa natura sensoriale (acustica, visiva o tattile). L'interesse della ricerca psicologica per questo riflesso deriva dal fatto che lo startle può essere utilizzato come indice dei cambiamenti di tipo psicofisiologico le cui fluttuazioni dipendono da attività psicologiche, come i processi cognitivi o le emozioni. Gli effetti modulatori dell'attenzione e delle emozioni sulla risposta di startle sono stati ripetutamente dimostrati in numerosi studi, attraverso l'utilizzo di differenti procedure sperimentali (per una rassegna si veda Dawson, Schell, & Boehmelt, 1999).

Gli studiosi dell'attenzione si sono serviti, nello specifico, delle caratteristiche modulatorie proprie dello startle per indagare alcuni aspetti del sistema attentivo e, in particolare, per mettere in evidenza l'influenza esercitata dai processi cognitivi sulle attività di natura riflessa (Filion, Dawson, & Schell, 1993; Hoffman, 1997). E' stato scoperto, infatti, nell'adulto, e confermato ripetutamente anche nelle prime fasi dello sviluppo, che latenza ed ampiezza dello startle sono modulate dalle diverse condizioni attentive in cui si trova l'organismo (Anthony & Graham, 1983, 1985; Balaban, 1996; Richards, 1998, 2000). In particolare, l'ampiezza della risposta risulta potenziata quando l'attenzione è focalizzata e quando la modalità sensoriale, acustica o visiva, dello stimolo oggetto di attenzione e dello stimolo elicitante lo startle sono congruenti (per esempio, un brano musicale di sottofondo e un picco di rumore bianco, oppure uno stimolo visivo e un flash di luce abbagliante). In due studi distinti Richards, nel 1998 e nel 2000, ha approfondito tali effetti modulatori nelle prime fasi dello sviluppo, grazie all'utilizzo di una nuova metodologia mediante la quale venivano individuate le diverse fasi attentive (*baseline*, attenzione sostenuta oppure in fase di disancoraggio attentivo) sulla base di specifiche modificazioni della frequenza cardiaca. Entrambi gli studi evidenziarono una modulazione della risposta di startle determinata dalla condizione attentiva degli infanti. In particolare, a partire dai 3 mesi di vita, la latenza diminuiva e l'ampiezza aumentava (facilitazione o potenziamento della risposta) quando l'attenzione del soggetto era rivolta verso lo stimolo di sfondo (attenzione ancorata), quando cioè veniva registrata una decelerazione del battito cardiaco, mentre la latenza aumentava e

l'ampiezza diminuiva (inibizione della risposta) quando l'accelerazione della frequenza cardiaca e il ritorno ai valori di *baseline* indicavano una fase di attenzione libera o non ancorata (Richards, 2000).

Sebbene la modificazione dello startle da parte delle condizioni attentive sia un fenomeno indagato sin dagli anni '70 (Graham, 1975), sono soprattutto gli importanti risultati ottenuti nell'indagine delle emozioni, grazie all'utilizzo del paradigma dello *startle probe* (un paradigma sperimentale che si basa sulla modificazione della risposta di startle; Bradley, Codispoti, Cuthbert, & Lang, 2001; Bradley, Codispoti, & Lang, 2006; Bradley, Cuthbert, & Lang, 1993; Codispoti, Bradley, & Lang, 2001; Cuthbert et al., 1996; Lang, 1995), che hanno determinato l'ampia diffusione della risposta nella ricerca fisiologica. L'intensità della risposta è infatti maggiore (potenziata) durante una condizione emozionale a tono edonico negativo, mentre risulta minore (inibita) durante una condizione emozionale a tono edonico positivo (Lang, 1995) (per un approfondimento si veda Capitolo 1). Tale modificazione, conosciuta in letteratura come modulazione affettiva della risposta di startle, è stata indagata principalmente mediante l'utilizzo di immagini connotate affettivamente (Bradley et al., 1993; Bradley et al., 2001; Codispoti et al., 2001). Per indurre uno stato emozionale nei soggetti, viene infatti generalmente utilizzato un set standardizzato di immagini (paesaggi, nudi, mutilazioni, operazioni chirurgiche, etc.) classificate, in relazione al loro contenuto, secondo la valenza affettiva (piacevole vs. spiacevole) ed il loro carattere attivante (molto vs. poco). A seconda della posizione che ciascuna di queste immagini occupa all'interno di tale classificazione, è stato possibile dimostrare in numerosi esperimenti che la risposta di startle variava in latenza ed ampiezza.

Come è stato descritto nei precedenti capitoli (v. Capitolo 1), Balaban (1995), adattando ai suoi obiettivi di ricerca la metodologia della presentazione di immagini (Bradley et al., 1993; Lang, 1995), ha presentato a bambini di 5 mesi, mediante la proiezione di diapositive, espressioni facciali di gioia (espressioni positive), di rabbia (espressioni negative) ed espressioni neutre. Uno stimolo acustico in grado di elicitare lo startle (un breve ed improvviso picco di rumore bianco di 95 dB d'intensità) veniva somministrato in corrispondenza dei periodi in cui i bambini esploravano visivamente gli stimoli. Grazie all'utilizzo di questa metodologia sperimentale Balaban (1995) è riuscita a dimostrare l'influenza modulatoria esercitata dalle espressioni emotive sulla risposta di startle e, quindi, la capacità di attribuire a 5 mesi un significato connotato affettivamente alle espressioni di gioia e rabbia. Infatti, rispetto allo startle elicitato durante la presentazione delle diapositive neutre, l'ampiezza della risposta aumentava quando lo stimolo uditivo veniva somministrato

durante la visione di espressioni di rabbia e si riduceva durante la visione di espressioni di gioia.

Grazie al paradigma sperimentale che prevede la presentazione di immagini connotate affettivamente è stato possibile, perciò, dimostrare l'influenza modulatoria dello stato emozionale sulla risposta di startle già a 5 mesi di vita. Tale paradigma sperimentale risulta, tuttavia, inficiato da una sostanziale problematica di fondo: l'utilizzo di immagini non consente di scindere l'effetto che stato attentivo (che è sempre ancorato, cioè rivolto allo stimolo) e stato emozionale hanno sulla modificazione della risposta di startle. Secondo alcuni autori (Lang, Bradley, & Cuthbert, 1997; Lipp, Neuman, Siddle, & Dall, 2001) non è possibile studiare isolatamente le influenze esercitate da stato attentivo e stato emozionale sulla modulazione affettiva della risposta di startle, tanto che spesso riferendosi a tale fenomeno viene utilizzata la terminologia *motivated attention* (Lang et al., 1997; Schupp, Cuthbert, Bradley, Hillman, Hamm, & Lang, 2004), poiché l'effetto dell'attenzione rivolta agli stimoli viene modulata dalla valenza affettiva degli stimoli stessi. In particolare Schupp et al. (2004), mediante un'analisi dei correlati elettroencefalografici associati al fenomeno della *motivated attention*, hanno dimostrato come la modulazione affettiva della risposta dipenda strettamente dal grado di mobilitazione di risorse attentive determinata dal contenuto affettivo delle immagini presentate.

E' evidente tuttavia la necessità di studiare i ruoli giocati sia dal sistema attentivo sia dal sistema emozionale nella modulazione affettiva della risposta di startle, per comprendere se sia un'interazione tra i due sistemi oppure l'azione isolata del sistema emozionale, indipendentemente dallo stato attentivo di un individuo, a determinare questo effetto. Scopo del presente esperimento è indagare le influenze modulatorie esercitate dallo stato attentivo e dallo stato affettivo sulla risposta di startle in infanti di 3 e di 5 mesi di vita. La latenza e l'ampiezza delle risposte di startle elicitate nel corso di una normale interazione madre-bambino sono state in particolare misurate mediante l'utilizzo dell'AIMMSS, una nuova metodologia non invasiva per la rilevazione della risposta motoria di startle (si veda Capitolo 2).

L'analisi degli stati attentivi è stata effettuata mediante una codifica dei movimenti oculari degli infanti. Ai genitori veniva chiesto di interagire con il proprio bambino nel corso della sessione sperimentale mostrandogli alcuni giocattoli contenuti in una scatola colorata. In questo modo lo sperimentatore poteva presentare gli stimoli acustici quando gli occhi del bambino fissavano il giocattolo (attenzione ancorata) oppure quando gli occhi del bambino mostravano frequenti ed ampie saccadi in diverse direzioni spaziali (condizione di controllo).

Grazie ad un'analisi video dei movimenti saccadici, effettuata da due codificatori indipendenti, è stato possibile determinare lo stato attentivo (che prevedeva due condizioni: condizione di attenzione ancorata o condizione di controllo) presente al momento della stimolazione acustica in grado di elicitare la risposta di startle. L'analisi dei movimenti oculari è una delle metodologie maggiormente conosciute ed utilizzate nell'indagine del comportamento attentivo degli infanti. Tale analisi trova fondamento nell'assunto che le variazioni della direzione dello sguardo seguono strettamente e sono dirette da variazioni dell'orientamento dell'attenzione (Calvo & Lang, 2004; Hoffman, 1998; Hoffman & Subramaniam, 1995; Rizzolatti, Riggio, Dascola, & Umiltà, 1987; Schafer & Moore, 2007). Mediante l'utilizzo di diversi paradigmi sperimentali, è stato inoltre dimostrato come sin dalla nascita il sistema oculo-motorio ed il sistema attenzionale siano estremamente correlati (Valenza, Simion, & Umiltà, 1994; Simion, Valenza, & Umiltà, 1995). In particolare, sulla base dei dati presenti in letteratura (Anthony & Graham, 1983, 1985; Richards, 1998, 2000) è possibile ipotizzare che, sia negli infanti di 3 mesi sia negli infanti di 5 mesi, la risposta di startle esibita nel momento in cui il comportamento oculare dell'infante indica una condizione di ancoraggio attentivo sia potenziata (minore latenza, maggiore ampiezza) rispetto alla risposta elicitata nel momento in cui il comportamento oculare dell'infante indica una condizione di non ancoraggio attentivo (condizione di controllo).

L'analisi degli stati affettivi degli infanti è stata effettuata mediante una codifica *offline* del comportamento espressivo facciale esibito dal bambino nel corso dell'intera prova. Nello specifico, le espressioni facciali sono state analizzate da due codificatori indipendenti mediante il sistema di codifica AFFEX (*A System for Identifying Affect Expressions by Holistic Judgements*; Izard, Dougherty, & Hembree, 1983). Tale sistema di codifica offre alcuni evidenti vantaggi legati al fatto di poter effettuare dei giudizi olistici, relativamente alle espressioni facciali infantili, sulla base dell'osservazione simultanea sul volto di specifici *pattern* motori (Izard, 1982; Izard et al., 1983). Grazie all'utilizzo dell'AFFEX sono state in particolare codificate le espressioni di sorriso e di distress, le quali, secondo Izard, identificano nell'infante, rispettivamente, una condizione emozionale a tono edonico positivo ed una condizione emozionale a tono edonico negativo (Izard et al., 1983). Sulla base delle espressioni facciali di sorriso e di distress esibite dal bambino nel corso dell'interazione con la madre è stato possibile calcolare per ogni bambino uno *smiling rate* ed un *distress rate* (cioè il numero medio di sorrisi e di espressioni facciali di distress esibite al minuto dal bambino). Utilizzando tali valori è stato possibile desumere il livello di affettività positiva e di affettività negativa espressa da ciascun infante. Ogni bambino è stato perciò classificato sia sulla base

del livello (alto o basso) di affettività positiva sia sulla base del livello (alto o basso) di affettività negativa, stabiliti in base al numero di espressioni facciali di sorriso e di distress esibite nel corso della sessione sperimentale.

La suddivisione del comportamento emozionale in affettività positiva ed affettività negativa appartiene ad una lunga tradizione di ricerca (Kochanska, Coy, Tjebkes, & Husarek, 1998; Watson & Tellegen, 1985; Watson, Wiese, Vaidya, & Tellegen, 1999). Secondo tale approccio teorico, affettività negativa ed affettività positiva sarebbero due dimensioni emozionali indipendenti. In particolare, secondo Witvliet e Vrana (1995) il fenomeno della modulazione affettiva della risposta di startle sarebbe da imputare principalmente all'attività della dimensione affettiva della negatività. L'inibizione della risposta di startle non sarebbe da associare, secondo questi autori, ad uno stato emozionale positivo, ma piuttosto ad un basso livello di negatività. Questa interpretazione sembrerebbe essere avvalorata dai numerosi lavori sperimentali che, nonostante abbiano ottenuto un potenziamento della risposta in conseguenza ad uno stato emozionale negativo, non sono riusciti a riprodurre l'inibizione dello startle in conseguenza ad uno stato emozionale positivo (Cook, Hawk, Davis, & Stevenson, 1991; Grillon & Baas, 2003; Witvliet & Vrana, 2000). Sulla base dell'ipotesi di Witvliet e Vrana (1995) si potrebbe perciò ipotizzare che la risposta di startle sia modificata soprattutto dal grado di affettività negativa esibito dai bambini, mostrando un potenziamento in infanti caratterizzati da un alto livello di negatività rispetto a bambini caratterizzati da un basso livello di negatività, mentre non vari rispetto alla dimensione della positività (Kochanska et al., 1998; Watson & Tellegen, 1985; Watson et al., 1999).

Sulla base dei dati ottenuti in un precedente studio (Dondi, 2008; Franchin, 2006) ed ai dati presenti in letteratura (Balaban, 1995), si può ipotizzare che tale modulazione affettiva sia già osservabile negli infanti di 5 mesi di vita. Questo esperimento si pone inoltre come una delle prime esplorazioni del fenomeno della modulazione affettiva di startle in infanti di 3 mesi di vita. Gli unici dati relativi ad una età antecedente ai 5 mesi di vita sono quelli ottenuti in un precedente studio (Dondi, 2008; Franchin, 2006) in cui la modulazione dello startle era stata indagata in lattanti di 3 e 5 mesi di vita (si veda Capitolo 2). Sulla base di tali dati (Dondi, 2008; Franchin, 2006), che hanno dimostrato una immaturità del network neurale responsabile della modificazione affettiva dello startle in infanti di 3 mesi di vita, si può ipotizzare, a tale età, un effetto modulatore dello stato affettivo sullo startle differente rispetto a quello riscontrabile in bambini di 5 mesi di vita e nell'adulto.

## Metodo

### *Partecipanti*

Hanno partecipato all'esperimento 26 bambini sani e nati a termine: 13 infanti (4 femmine) di 3 mesi d'età ( $12 \pm 1$  settimane) e 13 (4 femmine) di 5 mesi d'età ( $19 \pm 1$  settimane). Sono stati inoltre esclusi dalle analisi altri 14 bambini, che non hanno completato la sessione sperimentale a causa di sonnolenza, fame o eccessiva irrequietezza. Il reclutamento dei soggetti è avvenuto utilizzando le liste dell'anagrafe del comune di Padova, inviando una lettera ai genitori, e chiedendo loro la disponibilità a collaborare. In seguito i genitori sono stati contattati telefonicamente per fissare, se disponibili, l'appuntamento. L'esperimento, condotto presso il Dipartimento di Psicologia dello Sviluppo e della Socializzazione (DPSS) dell'Università degli Studi di Padova, aveva inizio solo dopo che il genitore aveva letto e firmato il consenso informato. Tutte le codifiche e le analisi dei dati sono state invece condotte presso l'Early Infancy Lab dell'Università degli Studi di Ferrara. Il trattamento di tutti i soggetti è avvenuto nel pieno rispetto dei principi etici dell'APA (American Psychological Association).

### *Misurazione della risposta di startle*

Le risposte di startle sono state registrate mediante l'utilizzo dell'AIMMSS. Le deformazioni meccaniche delle balestre d'acciaio dello strumento, grazie all'utilizzo di alcuni sensori estensimetrici, producevano un segnale in Volt, integrato da un amplificatore, proporzionale al cambiamento di sforzo applicato dai movimenti del bambino sul seggiolino (per maggiori dettagli sulle caratteristiche della strumentazione si veda il Capitolo 2).

In un ambiente di programmazione Labview sono state calcolate latenza all'onset (*onset latency*), latenza al picco (*peak latency*) ed ampiezza dei segnali registrati (Balaban, 1995; Richards, 1998, 2000). In particolare, nel presente esperimento, sono stati analizzati i segnali provenienti dal canale somma dello strumento, che racchiudeva le informazioni relative ai movimenti effettuati dal bambino nelle quattro direzioni dello spazio. La latenza all'onset veniva definita come il tempo intercorrente tra l'onset dello *startle stimulus* e l'inizio della risposta di startle (Berg & Balaban, 1999). La latenza al picco corrispondeva al tempo intercorrente tra l'onset dello *startle stimulus* ed il picco massimo della risposta di startle (Berg & Balaban, 1999). L'ampiezza di startle era definita come il voltaggio compreso tra il picco massimo dell'evento e la valle immediatamente precedente, entro una finestra temporale di 600 ms dall'onset dello *startle stimulus*.

### *Stimoli acustici*

Per elicitarne la risposta di startle sono stati utilizzati dei brevi (50 ms) picchi (*burst*) di rumore bianco presentati ad un'intensità di 95 dB con un tempo di ascesa e discesa immediati (Balaban, 1995; Berg & Balaban, 1999). Questi venivano prodotti da un generatore di rumore bianco customizzato ed erano presentati attraverso due casse acustiche poste ciascuna a circa mezzo metro dal bambino.

### *Procedura*

Gli infanti venivano sistemati sul seggiolino (AIMMSS) al cui fianco era seduto un genitore. Lo sperimentatore incoraggiava il genitore ad interagire liberamente con il bambino. All'interno del laboratorio veniva creato un ambiente privo di distrattori, grazie ad alcune tende che isolavano madre e bambino dallo spazio circostante.

All'inizio della sessione, lo sperimentatore offriva al bambino ed al genitore alcuni giochi che avevano la funzione di attrarre l'attenzione del bambino e di consentire allo sperimentatore di presentare lo stimolo acustico al momento opportuno. L'esperimento prevedeva la presentazione di 12 stimoli acustici. Le stimolazioni venivano presentate senza alcun preavviso da parte dello sperimentatore. In particolare, gli stimoli erano somministrati dallo sperimentatore nel momento in cui gli occhi del bambino fissavano un giocattolo (attenzione ancorata, A), e nei periodi in cui gli occhi del bambino mostravano una serie di saccadi ampie e frequenti in diverse direzioni spaziali (destra/sinistra; alto/basso) rispetto al giocattolo proposto (condizione di controllo, NA). Inoltre, allo scopo di limitare la presenza di artefatti dovuti all'attività motoria spontanea dei bambini, le stimolazioni venivano somministrate approfittando soprattutto dei momenti in cui il bambino non manifestava un'intensa attività motoria. L'esperimento aveva una durata di circa 10 minuti.

### *Codifica dell'attenzione*

Nel corso dell'esperimento il volto del bambino veniva videoripreso con una telecamera digitale posta su un treppiede. L'altezza del treppiede e l'angolo di ripresa della videocamera venivano costantemente monitorati al fine di ottenere una corretta visuale (primo piano) del volto e degli occhi del bambino. La presentazione degli stimoli acustici veniva marcata mediante un led rosso al fine di consentire un'identificazione più semplice degli stimoli in fase di codifica. Le codifiche del comportamento facciale dei soggetti sono state effettuate *offline* mediante il software Adobe Premiere Pro.

Sulla base della videoregistrazione del volto del bambino, due codificatori indipendenti rilevavano le condizioni attentive (attenzione ancorata, A; condizione di controllo, NA) del bambino al momento della presentazione delle stimolazioni acustiche, mediante un'analisi *frame-by-frame* dei movimenti oculari. In particolare, i codificatori annotavano il numero dei frames delle singole fissazioni oculari, contando a ritroso dal momento della stimolazione acustica sino alla saccade precedente, che determinava lo spostamento dell'attenzione su un altro oggetto (Calvo & Lang, 2004). Per stabilire una condizione di attenzione ancorata (A), una fissazione visiva di almeno 50 frames (che corrispondono a 2 secondi) doveva precedere la stimolazione acustica. La media dei frames (Tabella 4.1) delle prove con attenzione ancorata ( $n = 78$ ) era 130.42 (DS = 51.23). Venivano escluse dalle analisi tutte le prove in cui l'ancoraggio attentivo prima dello *startle stimulus* era inferiore ai 50 frames. Una condizione di controllo (NA) era invece definita come una condizione caratterizzata da frequenti ed ampie saccadi in diverse direzioni spaziali (destra/sinistra; alto/basso) prima della stimolazione (in questo caso non c'era una fissazione di almeno due secondi prima della stimolazione). La media dei frames (Tabella 4.1) delle prove di controllo ( $n = 78$ ) era 13.11 (DS = 7.92). Venivano escluse dalle analisi le prove di controllo in cui l'ultima saccade prima dello *startle stimulus* avveniva oltre i 25 frames (1 secondo). Venivano, inoltre, escluse tutte le prove in cui non vi era un accordo totale tra i codificatori relativamente alla condizione attentiva del bambino. Infine, sono state selezionate per ogni bambino le prime 3 prove con attenzione ancorata (A) e le prime 3 prove di controllo (NA) in cui fosse presente almeno una risposta di startle.

In totale sono stati analizzati 312 eventi. L'accordo tra codificatori riguardo alle condizioni attentive (A vs. NA) dei bambini è risultato essere alto ( $k$  di Cohen = .81). Le percentuali del tempo (frames) in accordo tra i codificatori era 94,07% per l'attenzione ancorata (A) e 90,54% per l'attenzione non ancorata (NA). Tutti i disaccordi relativi alla durata temporale sono stati discussi dai due codificatori ed è stato prodotto un protocollo comune.



Tabella 4.1  
*Media e deviazione standard della durata delle due condizioni attentive codificate  
rispettivamente nei bambini di 3 mesi e nei bambini di 5 mesi*

	<b>Condizione di Attenzione Ancorata (A)</b>	<b>Condizione di Controllo (NA)</b>
<b>ETA'</b>	Media (DS)	Media (DS)
3 mesi	136 (90)	12 (10)
5 mesi	125 (83)	13 (11)

*Nota.* Nella prima riga sono riportate la media e la deviazione standard della durata (espressa in frames) delle condizioni attentive ancorate (A) e delle condizioni di controllo (NA) negli infanti di 3 mesi di vita, nella seconda riga gli stessi valori negli infanti di 5 mesi di vita.

#### *Codifica delle espressioni facciali*

Sulla base della videoregistrazione del volto del bambino, e grazie all'utilizzo del software Adobe Premiere Pro, due codificatori indipendenti, addestrati all'utilizzo del sistema di codifica AFFEX (*A System for identifying Affect Expressions by Holistic Judgements*; Izard, et al., 1983), codificavano *frame-by-frame* l'occorrenza delle espressioni facciali di sorriso e di distress esibite da ciascun bambino nel corso dell'intera sessione sperimentale (dal momento, cioè, in cui il bambino sedeva sul seggiolino, al momento in cui veniva somministrato l'ultimo stimolo acustico).

L'AFFEX è un sistema di codifica dei movimenti facciali su base anatomica ideato per identificare negli infanti le emozioni fondamentali e le relative espressioni facciali. Mediante l'AFFEX è possibile ottenere dei giudizi olistici sulla base dell'osservazione simultanea sul volto infantile di specifici pattern motori (Izard, 1982, Izard et al., 1983). In particolare, questo sistema di codifica fa riferimento ad alcuni indici, forniti dal sistema di codifica MAX (*The Maximally Discriminative Facial Movement Coding System*; Izard, 1979), denominati *appearance changes* (ACs), che identificano precisi movimenti del volto.

Secondo il sistema di codifica AFFEX, nel sorriso (l'espressione associata all'*enjoyment-joy*; EJ) gli angoli della bocca sono tirati indietro e sollevati (azione che corrisponde alla AC 52 del MAX); allo stesso tempo le guance sono sollevate (azione che corrisponde alla AC 38 del MAX) e le sopracciglia rimangono in una posizione normale, o di riposo. Nell'espressione di distress (l'espressione associata al *discomfort-pain*; DP) gli occhi

vengono chiusi con forza (azione che corrisponde alla AC 37 del MAX) e le sopracciglia sono abbassate e strette (azione che corrisponde alla AC 25 del MAX). Secondo Izard (1979), la co-occorrenza della AC 25 e della AC 37 può essere utilizzata come criterio minimo per l'identificazione dell'espressione di distress (DP). Tuttavia, la configurazione facciale di base può essere arricchita dalla presenza simultanea di una bocca a forma squadrata (*angular, squarish mouth*; AC 54), di una bocca aperta e tesa (*open tense mouth*, AC 55) e delle guance sollevate (*cheeks raised*; AC 38).

Sulla base delle codifiche delle espressioni di sorriso e di distress effettuate dai due codificatori, sono stati calcolati per ogni bambino uno *smiling rate* ed un *distress rate* (cioè il numero medio di sorrisi e di espressioni facciali di distress esibite al minuto dal bambino). I valori mediani dei due *rates* a 3 e 5 mesi, sono stati in seguito utilizzati per dicotimizzare il campione, suddividendo i bambini rispettivamente in: Alta affettività Positiva (AP) - Bassa affettività Positiva (BP) e Alta affettività Negativa (AN) - Bassa affettività Negativa (BN). Ogni bambino era perciò classificato sia sulla base del proprio *smiling rate* sia sulla base del proprio *distress rate*<sup>4</sup>.

Il grado di accordo tra codificatori è stato valutato attraverso l'identificazione delle due espressioni facciali codificate con il sistema AFFEX. L'affidabilità tra codificatori (k di Cohen) è stata calcolata su campioni casuali corrispondenti a circa il 20% della durata totale delle videoregistrazioni. Per stabilire l'accordo nell'occorrenza delle espressioni facciali, sono state utilizzate delle finestre temporali di 2 secondi all'interno delle quali veniva raggiunto un accordo se entrambi i codificatori codificavano la presenza di un'espressione facciale di sorriso (EJ) o di distress (DP), indipendentemente dalla loro durata (Bakeman & Gottman, 1986). I kappa di Cohen sono risultati essere buoni sia per quanto riguarda l'identificazione del sorriso (.88) sia per quanto riguarda l'identificazione dell'espressione di distress (.77).

### *Analisi dei dati*

I dati sono stati analizzati con un'analisi fattoriale. L'ETA' (due condizioni: 3 e 5 mesi) ed il LIVELLO AFFETTIVO (due condizioni: Alta affettività e Bassa affettività) dell'affettività positiva (sorriso) e dell'affettività negativa (distress) erano fattori tra i soggetti. La CONDIZIONE ATTENTIVA (due condizioni: attenzione ancorata e condizione di controllo) era un fattore entro i soggetti. I dati dicotomizzati sulla base della affettività positiva e sulla base dell'affettività negativa sono stati analizzati in due analisi distinte. In particolare, la latenza, la latenza al picco e l'ampiezza delle risposte di startle sono state

---

<sup>4</sup> Il valore centrale di ciascuna distribuzione (n = 13) veniva assimilato al gruppo "Alta" o "Bassa" affettività sulla base della minore distanza numerica rispetto ai valori più vicini dei due gruppi.

analizzate mediante un'analisi della varianza (ANOVA) a misure ripetute (SPSS for Windows v12.0, Chicago, IL). Ove indicato, ulteriori ANOVA a singolo fattore sono state eseguite per esaminare effetti principali o effetti interazione.

## Risultati

In Tabella 4.2 sono riportati per i due gruppi d'età (3 e 5 mesi) i valori medi della latenza, latenza al picco ed ampiezza registrati nei quattro gruppi dicotomizzati. Inoltre sono riportati in Tabella 4.2 anche i valori medi relativi al *distress rate* ed allo *smiling rate* per i diversi gruppi affettivi alle due età.

Tabella 4.2

Medie e deviazioni standard del *distress rate*, dello *smiling rate* e dei parametri di *startle* registrati con l'AIMMSS nelle due condizioni attentive ed alle due età

ETA'	Gruppi Dicotomizzati	Distress/ Smiling Rate	Attenzione Ancorata (A)			Controllo (NA)		
			Latenza (ms)	Latenza al picco (ms)	Ampiezza (V)	Latenza (ms)	Latenza al picco (ms)	Ampiezza (V)
			<i>M</i> ( <i>DS</i> )	<i>M</i> ( <i>DS</i> )	<i>M</i> ( <i>DS</i> )	<i>M</i> ( <i>DS</i> )	<i>M</i> ( <i>DS</i> )	<i>M</i> ( <i>DS</i> )
3 mesi	AN	1.41 (0.77)	137.75 (52.04)	269.33 (96.80)	.021 (.009)	114.39 (29.28)	315.55 (126.84)	.020 (.013)
	BN	0.12 (0.13)	94.36 (45.23)	286.28 (94.28)	.044 (.027)	110.76 (60.24)	264.26 (56.59)	.022 (.014)
	AP	1.81 (1.40)	103.07 (44.01)	248.07 (82.31)	.036 (.028)	118.52 (56.62)	277.52 (61.94)	.021 (.016)
	BP	0.27 (0.11)	127.58 (60.55)	313.92 (96.38)	.031 (.018)	105.33 (35.51)	300.08 (129.23)	.021 (.010)
5 mesi	AN	1.43 (1.37)	104.75 (38.50)	268.83 (100.39)	.054 (.038)	202.72 (67.97)	371.83 (90.76)	.028 (.023)
	BN	0.15 (0.13)	188.04 (56.56)	310.09 (93.54)	.026 (.021)	197.50 (115.62)	426.21 (135.71)	.038 (.031)
	AP	2.07 (0.58)	179.05 (66.15)	321.52 (89.93)	.029 (.022)	203.78 (114.69)	409.93 (108.31)	.028 (.026)
	BP	0.33 (0.32)	115.25 (43.85)	255.50 (95.69)	.051 (.041)	195.39 (69.64)	390.83 (133.92)	.039 (.028)

Nota. Nella tabella sono riportate per entrambe le età indagate (3 e 5 mesi), le medie relative alla latenza, alla latenza al picco e all'ampiezza registrate nelle condizioni di attenzione ancorata (A) e nella condizione di controllo (NA) nei 4 gruppi dicotomizzati. In tabella sono inoltre riportati, all'interno di ogni età, le medie del *distress rate* e dello *smiling rate* rispettivamente ai quattro gruppi di bambini: Alta affettività Negativa (AN), Bassa affettività Negativa (BN), Alta affettività Positiva (AP), Bassa affettività Positiva (BP). In particolare nei gruppi AN e BN vengono riportati i valori riferiti al *distress rate* e nei gruppi AP e BP i valori riferiti allo *smiling rate*.

### *Latenza della risposta di startle*

Sono state analizzate latenza all'onset e latenza al picco della risposta di startle. Queste latenze sono state analizzate, separatamente per l'affettività positiva (sorriso) e per l'affettività negativa (distress), mediante un'analisi della varianza con un disegno ETA' (2) X LIVELLO AFFETTIVO (2) X CONDIZIONE ATTENTIVA (2).

Dalle analisi è emerso un effetto principale significativo dell'ETA' sulla latenza all'onset,  $F(1, 22) = 8.469$ ,  $p = .008$ . In particolare è risultato che la latenza aumentava a seconda dell'età; la latenza all'onset è risultata infatti essere più breve nei bambini di 3 mesi ( $M = 113.41$  ms,  $DS = 38.58$  ms) rispetto ai bambini di 5 mesi ( $M = 174.76$  ms,  $DS = 62.69$  ms). Lo stesso effetto dell'ETA' sulla latenza al picco è risultato essere solamente tendente alla significatività,  $F(1, 22) = 4.034$ ,  $p = .057$ . Le analisi hanno tuttavia sottolineato un significativo effetto principale della CONDIZIONE ATTENTIVA sulla latenza al picco della risposta,  $F(1, 22) = 5.327$ ,  $p = .031$ . In entrambi i gruppi d'età, la latenza al picco era più breve nella condizione di attenzione ancorata (A) rispetto alla condizione di controllo (NA) ( $M = 284.76$  ms e  $344.53$  ms, rispettivamente per la condizione attenzione-ancorata e per la condizione di controllo).

Le analisi relative all'affettività negativa (distress) hanno evidenziato una interazione a tre vie significativa sulla latenza all'onset tra l'ETA', il LIVELLO AFFETTIVO e la CONDIZIONE ATTENTIVA,  $F(1, 22) = 4.488$ ,  $p = .046$ . Tale effetto è rappresentato nella Figura 4.1, che mostra, separatamente per le due condizioni attentive considerate, l'interazione tra l'età e il livello affettivo (Alta affettività Negativa, AN - Bassa affettività Negativa, BN) sulla latenza all'onset. Approfondendo quest'effetto con ulteriori analisi, è emerso che l'interazione tra l'età ed il livello affettivo era significativo nella condizione di attenzione ancorata (A),  $F(1, 22) = 10.882$ ,  $p = .003$ . Come si può vedere in Figura 4.1, quando lo stimolo di startle veniva presentato durante un ancoraggio attentivo, gli infanti di 5 mesi con un'alta affettività negativa (AN) mostravano una risposta di startle più veloce ( $M = 104.75$  ms,  $DS = 38.50$  ms) rispetto agli infanti con una bassa affettività negativa (BN) ( $M = 188.05$  ms,  $SD = 56.56$  ms). Al contrario, i bambini di 3 mesi hanno mostrato un trend opposto: durante l'ancoraggio attentivo, i bambini caratterizzati da un'alta affettività negativa (AN) esibivano una risposta più lenta ( $M = 137.75$  ms,  $DS = 52.04$  ms) rispetto ai bambini caratterizzati da una bassa affettività negativa (BN) ( $M = 94.36$  ms,  $DS = 45.23$  ms).

Nella condizione attentiva di controllo, l'effetto interazione tra ETA' e LIVELLO AFFETTIVO negativo non è risultato essere significativo (Figura 4.1). Inoltre, non è stato riscontrato alcun risultato significativo relativo all'interazione tra fattori nelle analisi effettuate relativamente all'affettività positiva (sorriso).

### ETÀ X LIVELLO AFFETTIVO X CONDIZIONE ATTENTIVA

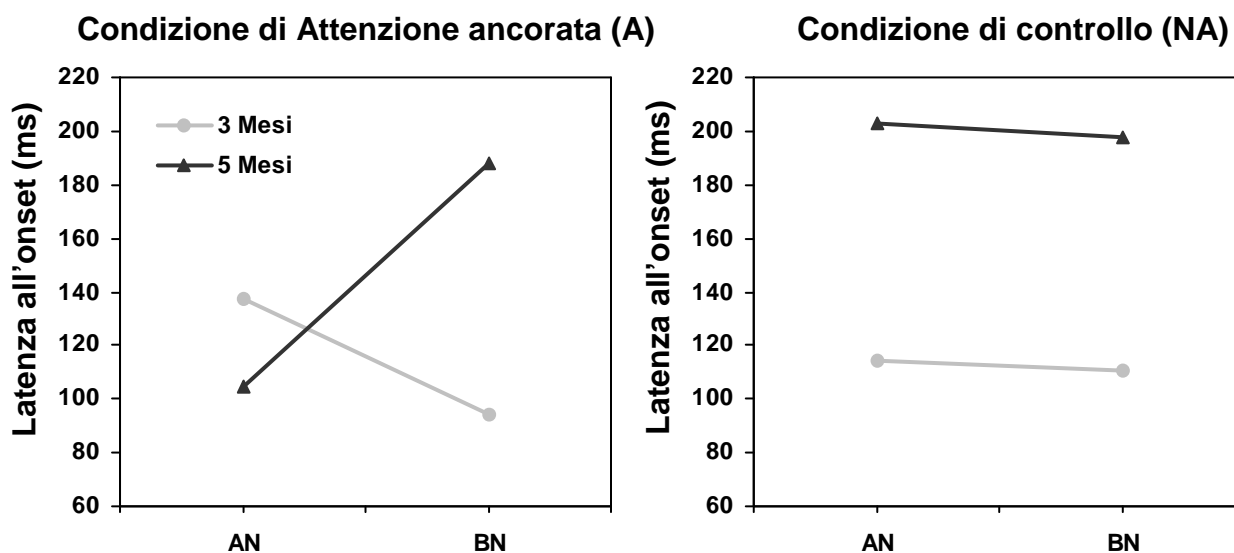


Figura 4.1. La latenza all'onset (ms) della risposta di startle come funzione dell'età e del livello affettivo negativo, separatamente per le due condizioni attentive. La linea nera rappresenta la differenza nella latenza della risposta di startle tra infanti di 5 mesi caratterizzati da un'alta affettività negativa (AN) ed infanti caratterizzati da una bassa affettività negativa (BN). La linea grigia rappresenta la differenza nella latenza della risposta di startle tra infanti di 3 mesi caratterizzati da un'alta affettività negativa (AN) ed infanti caratterizzati da una bassa affettività negativa (BN).

#### *Ampiezza della risposta di startle*

L'ampiezza della risposta di startle è stata analizzata, separatamente per l'affettività positiva (sorriso) e per l'affettività negativa (distress), mediante un'analisi della varianza con un disegno ETA' (2) X LIVELLO AFFETTIVO (2) X CONDIZIONE ATTENTIVA (2). Da questa analisi non è emerso alcun effetto principale significativo dei singoli fattori.

Le analisi relative all'affettività negativa (distress) hanno evidenziato un'interazione a tre vie significativa tra ETA', LIVELLO AFFETTIVO e CONDIZIONE ATTENTIVA,  $F(1, 22) = 6.496$ ,  $p = .018$ . Questo effetto è rappresentato nella Figura 4.2, che mostra, separatamente per le due condizioni attentive considerate, l'interazione tra l'età e il livello affettivo (Alta affettività Negativa, AN - Bassa affettività Negativa, BN) nell'analisi relativa all'ampiezza della risposta di startle. Analogamente all'effetto riscontrato nella latenza

all'onset, l'interazione tra l'età ed il livello affettivo negativo sull'ampiezza era significativo nella condizione attenzione-ancorata (A),  $F(1, 22) = 6.204, p = .021$ . Come si può vedere in Figura 4.2, quando lo stimolo di startle veniva presentato durante un ancoraggio attentivo, gli infanti di 5 mesi con un'alta affettività negativa (AN) mostravano una risposta di startle più forte ( $M = 54.19 \text{ mV}, DS = 38.82 \text{ mV}$ ) rispetto agli infanti con una bassa affettività negativa (BN) ( $M = 25.84 \text{ mV}, DS = 20.97 \text{ mV}$ ). Al contrario, i bambini di 3 mesi mostravano un trend opposto: durante l'ancoraggio attentivo, i bambini caratterizzati da un'alta affettività negativa (AN) esibivano un'inibizione della risposta ( $M = 21.26 \text{ mV}, DS = 8.86 \text{ mV}$ ) rispetto ai bambini caratterizzati da una bassa affettività negativa (BN) ( $M = 44.31 \text{ mV}, DS = 27.59 \text{ mV}$ ). Nella condizione attentiva di controllo l'effetto interazione tra ETÀ e LIVELLO AFFETTIVO negativo non è risultato essere significativo (Figura 4.2). Per quanto concerne, inoltre, le analisi effettuate relativamente all'affettività positiva (sorriso) non è emerso alcun risultato significativo.

#### ETÀ X LIVELLO AFFETTIVO X CONDIZIONE ATTENTIVA

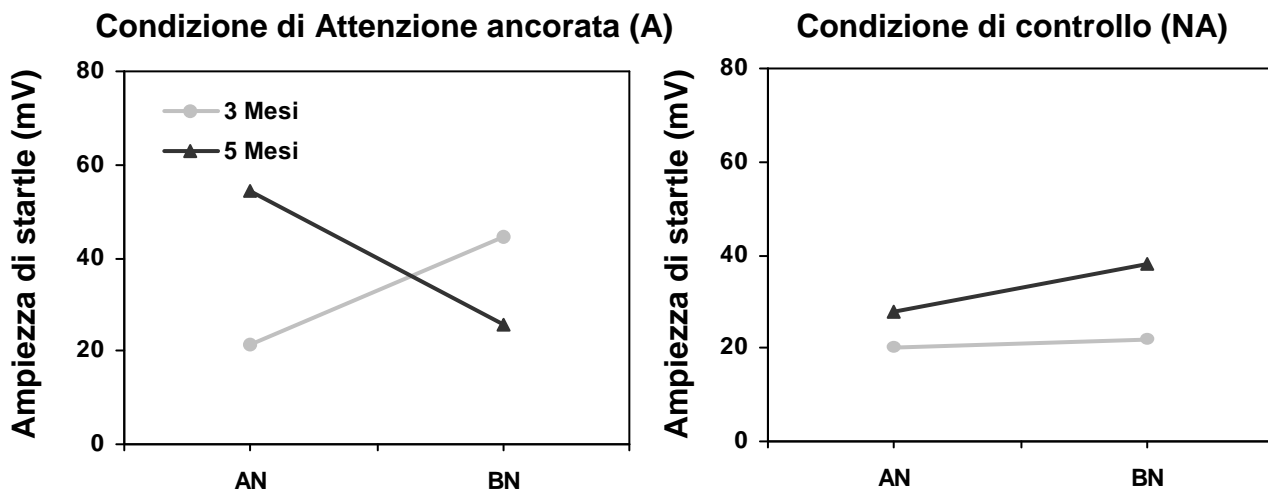


Figura 4.2. L'ampiezza (mV) della risposta di startle come funzione dell'età e del livello affettivo negativo, separatamente per le due condizioni attentive. La linea nera rappresenta la differenza nell'ampiezza della risposta tra infanti di 5 mesi caratterizzati da un'alta affettività negativa (AN) ed infanti caratterizzati da una bassa affettività negativa (BN). La linea grigia rappresenta la differenza nell'ampiezza della risposta tra infanti di 3 mesi caratterizzati da un'alta affettività negativa (AN) ed infanti caratterizzati da una bassa affettività negativa (BN).

#### Discussione

Scopo del presente studio era indagare le influenze modulatorie esercitate dalle condizioni attentive e dalle condizioni affettive sulla risposta di startle in infanti di 3 e di 5

mesi di vita. Grazie all'analisi degli stati attentivi, effettuata mediante una codifica dei movimenti oculari degli infanti, e grazie ad un'analisi del comportamento affettivo, effettuata mediante una codifica delle espressioni di sorriso e di distress, è stato possibile in particolare indagare i ruoli giocati sia dal sistema attentivo sia dal sistema emozionale nella modificazione della risposta.

Un primo risultato emerso dalle analisi, ha evidenziato un effetto modulatore dell'attenzione sul parametro della latenza (in particolare sulla latenza al picco). Sia a 3 mesi sia a 5 mesi di vita, la risposta di startle è risultata essere più veloce nella condizione di attenzione ancorata rispetto alla condizione di controllo. Tale risultato è in linea con i dati di Richards (1998, 2000), che hanno dimostrato una facilitazione nel parametro della latenza durante una condizione di ancoraggio attentivo a partire dai 3 mesi di vita. Secondo Richards il potenziamento dello startle durante una condizione di attenzione ancorata sarebbe da ricondursi all'attività di un sistema d'arousal generalizzato, localizzato in particolare a livello della formazione reticolare mesencefalica (Richards, 2000). Tale risultato testimonia come, sia a 3 sia a 5 mesi di vita, lo stato attentivo degli infanti, indipendentemente dalla condizione affettiva, possa determinare una modificazione della risposta di startle.

Per quanto riguarda l'analisi del ruolo esercitato dall'affettività positiva e dall'affettività negativa sulla modificazione della risposta di startle, è emerso, sia nei dati relativi alla latenza sia nei dati relativi all'ampiezza della risposta, che solamente il livello di affettività negativa esibito dagli infanti durante l'interazione con la madre era in grado di modulare la risposta di startle. L'effetto dell'affettività negativa sulla risposta era tuttavia contraddistinto da due differenti pattern modulatori alle due età esaminate.

In particolare, i bambini caratterizzati a 5 mesi da un alto livello di affettività negativa mostravano un potenziamento (minore latenza, maggiore ampiezza) della risposta di startle rispetto ai bambini caratterizzati da un basso livello di negatività. Tale risultato corrisponde al *pattern* modulatore che caratterizza il potenziamento della risposta di startle in conseguenza dell'attività di uno stato emozionale negativo trovato a 5 mesi di vita e negli adulti (Balaban, 1995; Dondi, 2008; Franchin, 2006; Lang, 1995). Tuttavia i risultati hanno evidenziato come questo *pattern* si inverta negli infanti di 3 mesi di vita: i bambini caratterizzati da un basso livello di affettività negativa mostravano un potenziamento (minore latenza, maggiore ampiezza) della risposta di startle rispetto ai bambini caratterizzati da un alto livello di negatività.

Tale risultato replica alcuni dati di una precedente ricerca relativa alla modulazione affettiva di startle infantile (Dondi, 2008; Franchin, 2006), che dimostravano come gli effetti

modulatori esercitati sulla risposta da uno stato emozionale negativo in infanti di 3 mesi di vita fossero esattamente opposti rispetto a quelli dimostrati dalla letteratura in infanti di 5 mesi di vita e nell'adulto. I risultati ottenuti in tale indagine (Dondi, 2008; Franchin, 2006) e nel presente esperimento, suggeriscono che il tipico effetto modulatore (potenziamento) esercitato sulla risposta di startle da uno stato affettivo negativo maturi tra i 3 ed i 5 mesi di vita. Si potrebbe infatti ipotizzare che le strutture cerebrali coinvolte nel circuito neurale responsabile della modulazione affettiva della risposta di startle non abbia ancora raggiunto una maturazione completa a 3 mesi di vita.

L'ipotesi relativa ad una maturazione neurale potrebbe essere sostenuta anche dai dati relativi ad una differente velocità di elicitazione della risposta a 3 e 5 mesi di vita. Un risultato emerso nei parametri relativi alla velocità della risposta (latenza all'onset e latenza al picco), ha infatti mostrato che gli infanti di 3 mesi di vita erano caratterizzati da una risposta più veloce rispetto agli infanti di 5 mesi di vita. La risposta di startle è determinata da una via neurale estremamente semplice, le cui strutture sono già relativamente mature alla nascita. Tale risultato potrebbe tuttavia essere determinato dal rapido sviluppo neurologico e dalla diffusa riorganizzazione neurale che caratterizza i primi mesi di vita. In particolare il periodo tra i 3 ed i 5 mesi di vita, come è stato evidenziato anche dai dati relativi alla modificazione affettiva della risposta, potrebbe essere un periodo estremamente sensibile per la riorganizzazione neurale delle sinapsi che fanno riferimento alla via neurale primaria responsabile dello startle.

Nonostante i differenti *pattern* modulatori che caratterizzano le due età indagate, i risultati hanno dimostrato che solamente l'affettività negativa era in grado di modificare latenza e ampiezza dello startle. Tali dati avvalorano l'ipotesi sostenuta da Witvliet e Vrana (1995), relativamente al fatto che la risposta di startle sia modulata principalmente dalla dimensione affettiva della negatività. Le analisi effettuate sulla dimensione dell'affettività positiva non hanno infatti rilevato, né a 3 né a 5 mesi di vita, alcun effetto della positività sulla risposta di startle. Solamente i diversi livelli di affettività negativa esibiti alle due età indagate, riuscivano a modulare differentemente i parametri della risposta di startle. Sebbene, infatti, siano stati riscontrati degli andamenti modulatori differenti alle due età, la facilitazione e l'inibizione della risposta di startle erano comunque determinati, sia a 3 sia a 5 mesi, dal grado di affettività negativa esibito dall'infante nel corso della sessione sperimentale.

Sulla base di questi risultati si potrebbe ipotizzare che le strutture neurali in grado di modificare ampiezza e latenza della risposta siano principalmente quelle connesse all'affettività negativa. Tale ipotesi sembrerebbe trovare conferma nelle esigue conoscenze



neurofisiologiche relative alla fenomeno della modificazione (inibizione) di startle in conseguenza ad uno stato emozionale positivo rispetto ad una più precisa mappatura dei centri neurali coinvolti nel potenziamento della risposta in conseguenza ad uno stato emozionale negativo. È infatti ancora poco chiaro come le aree cerebrali coinvolte nel processamento di emozioni positive interagiscano con il circuito neurale primario dello startle. Ad oggi infatti si conosce solamente che parte del circuito neurale esistente tra *nucleus accumbens* e *globus pallidus* (che governa comportamenti legati alla ricompensa) sia importante per la riduzione della risposta di startle in presenza di uno stimolo precedentemente associato con una ricompensa (Koch, 1999). I differenti risultati ottenuti nelle analisi relative all'affettività positiva e all'affettività negativa sembrerebbero quindi avvalorare la posizione teorica che afferma l'indipendenza delle due dimensioni affettive della positività e della negatività (Kochanska et al., 1998; Watson & Tellegen, 1985; Watson et al., 1999). Tali dati inducono inoltre a sostenere che la dimensione dell'affettività negativa possa essere utilizzata come un efficace costrutto teorico in grado di spiegare il fenomeno della modulazione affettiva della risposta di startle nei primi mesi di vita.

Le analisi hanno tuttavia evidenziato che l'effetto modulatorio dall'affettività negativa sulla latenza e sull'ampiezza della risposta di startle, ad entrambe le età indagate, era presente solamente nella condizione di attenzione ancorata. Nonostante il differente effetto modulatorio esercitato dalla negatività alle due età indagate, la modulazione affettiva della risposta è emersa, sia a 3 sia a 5 mesi di vita, solamente nelle risposte elicitate durante una condizione di attenzione ancorata. Tale risultato evidenzia una sinergia del sistema attentivo e del sistema emozionale nel determinare il fenomeno della modulazione affettiva della risposta di startle.

Sulla base di questi risultati si può ipotizzare che l'attività del sistema di arousal generalizzato che caratterizza una condizione di ancoraggio attentivo (Richards, 2000), consenta agli effetti modulatori esercitati dal sistema emozionale, di raggiungere un livello di soglia in grado di influenzare la risposta di startle. E' stato infatti dimostrato (Cuthbert, Bradley, & Lang, 1996) che la modulazione affettiva della risposta di startle non sia presente a bassi livelli di arousal, ma sia necessario il raggiungimento di un livello di soglia perché l'effetto emerga. Il grado di attivazione determinato dall'attività del sistema attentivo consentirebbe perciò alle influenze modulatorie esercitate sullo startle dal sistema emozionale di emergere.

Dai dati ottenuti nel presente studio emergono nuovi spunti di riflessione per comprendere i meccanismi modulatori della risposta di startle nella prima infanzia.

Innanzitutto, sulla base di questi dati è possibile desumere che l'attenzione sia in grado di modificare la risposta di startle indipendentemente dall'attività del sistema emozionale. È infatti emerso, sia nei bambini di 3 mesi di vita sia nei bambini di 5 mesi di vita, che la latenza al picco della risposta era più breve durante una condizione di attenzione ancorata rispetto alla condizione di controllo. Tale effetto, emerso indipendentemente dalla condizione affettiva indagata e dal gruppo di età indagato, corrisponde al pattern modulatore già individuato negli adulti (Anthony & Graham, 1983, 1985) ed a partire dai 3 mesi di vita (Richards, 1998, 2000). Le connessioni neurali tra le strutture del sistema attentivo e le strutture responsabili della risposta di startle sembrerebbero essere già mature ai 3 mesi di vita ed in grado di modificare i parametri della risposta in maniera indipendente rispetto all'attività delle strutture neurali di tipo emozionale.

Al contrario la modificazione della risposta da parte dello stato affettivo sembrerebbe essere strettamente dipendente dall'attività del sistema attentivo. Sia a 3 sia a 5 mesi di vita, è stato possibile riscontrare una modificazione della risposta di startle determinata dalla condizione affettiva degli infanti solamente durante una condizione di attenzione ancorata. L'effetto modulatore esercitato dalla condizione affettiva non è infatti emerso durante la condizione di controllo. Sulla base di questi dati si potrebbe ipotizzare che le connessioni neurali esistenti tra sistema attentivo e sistema emozionale siano fondamentali nel consentire alle influenze modulatorie esercitate dagli stati affettivi di emergere. A tale proposito è stato dimostrato che l'amigdala (la struttura neurale ritenuta responsabile del potenziamento dello startle durante una condizione affettiva negativa) formi una sinapsi con i nuclei mesencefalici profondi prima di trasmettere il segnale alle strutture neurali responsabili dello startle (Frankland & Yeomans, 1993; Yeomans & Pollard, 1993). Tale sinapsi è ritenuta essere fondamentale per il fenomeno del potenziamento dello startle nei ratti. Tuttavia il *network* neurale responsabile della modificazione della risposta di startle è tutt'altro che ben conosciuto nell'essere umano. Rimangono infatti ancora numerose lacune rispetto ai meccanismi neurali responsabili del fenomeno (v. Koch, 1999). I dati del presente esperimento potrebbero tuttavia suggerire una strategia di indagine per comprendere la neurodinamica alla base della modificazione affettiva dello startle: concentrarsi sulle connessioni tra strutture neurali implicate nel processamento attentivo e strutture neurali implicate nel comportamento emozionale.

## Conclusioni generali

Scopo generale del presente lavoro era indagare la modificazione della risposta di startle mediante l'utilizzo di un nuovo approccio metodologico adatto all'analisi di tale fenomeno nella primissima infanzia. Ad oggi i risultati presenti in letteratura, ottenuti grazie all'utilizzo del paradigma dello *startle probe*, inducono a credere che la modificazione della risposta di startle possa rappresentare un marcatore biologico particolarmente adatto allo studio dello sviluppo affettivo ed attentivo (v. Balaban, 1995; Richards, 1998, 2000). Sulla base di tali premesse, è stato proposto un approccio metodologico creato appositamente per l'analisi della risposta di startle nella prima infanzia, al fine di consentire lo studio delle influenze modulatorie esercitate sullo startle dal sistema emotivo e dal sistema attentivo.

Tale approccio si basa sull'utilizzo di un nuovo sistema misurativo non invasivo e non intrusivo per la rilevazione della risposta motoria di startle infantile (AIMMSS) e su un nuovo paradigma sperimentale per l'indagine della modulazione affettiva dello startle basato sull'analisi del comportamento espressivo-facciale infantile. Queste due metodologie sono state proposte come possibili soluzioni alle problematiche che caratterizzano l'indagine dello startle nel primo sviluppo: l'intrusività e l'invasività della misurazione che comunemente viene adottata nella rilevazione della risposta di startle, cioè l'elettromiografia del riflesso di ammiccamento palpebrale; la difficoltà nell'individuare e sviluppare nuove metodologie adatte ad indagare la modificazione dello startle nelle prime fasi dello sviluppo. Tali proposte metodologiche sono state applicate e testate all'interno dei due contributi sperimentali presentati in questo lavoro.

Scopo del primo studio era indagare la modulazione affettiva della risposta di startle elicitata in concomitanza dell'esibizione spontanea delle espressioni facciali di sorriso e di distress in infanti di 5 mesi di vita. Nello specifico, in linea con la *Motivational Priming Hypothesis* formulata da Lang (1995), si ipotizzava che se l'esibizione spontanea di un'espressione di sorriso fosse stata accompagnata dall'attività del sistema motivazionale appetitivo, la risposta di startle elicitata nel corso della sua esibizione sarebbe dovuta risultare inibita; allo stesso modo, se l'esibizione spontanea di un'espressione di distress fosse stata accompagnata dall'attività del sistema motivazionale aversivo, la risposta di startle elicitata nel corso della sua esibizione sarebbe dovuta essere potenziata. Grazie ad un confronto tra le risposte elicitate durante l'esibizione delle espressioni facciali di sorriso e di distress, e le risposte elicitate durante l'esibizione di espressioni facciali neutre (caratterizzate da un

rilassamento muscolare) avvenute in stretta concomitanza temporale con le espressioni indagate, è stato possibile analizzare la modulazione affettiva della risposta di startle.

Tuttavia i risultati ottenuti non hanno confermato la presenza di una modulazione affettiva delle risposte di startle elicitate in concomitanza con l'esibizione spontanea delle espressioni facciali di sorriso e di distress. In particolare, i confronti effettuati tra le risposte di startle elicitate durante le due espressioni facciali e le risposte elicitate durante le condizioni di controllo avvenute in stretta concomitanza temporale con le espressioni facciali, non hanno evidenziato né un'inibizione né un potenziamento della risposta. Ciò nonostante, i risultati hanno evidenziato un effetto inaspettato rispetto alle ipotesi iniziali: le risposte elicitate durante le espressioni neutre immediatamente successive all'esibizione delle due espressioni facciali, erano caratterizzate da due andamenti modulatori differenti, a seconda del fatto che seguissero un'espressione facciale di sorriso o un'espressione facciale di distress. Mentre l'andamento modulatorio esistente tra le risposte elicitate successivamente alle espressioni facciali di distress e le risposte elicitate durante le espressioni di distress era di tipo facilitatorio (i dati hanno evidenziato, infatti, un incremento dell'intensità della risposta nelle condizioni neutre successive alle espressioni facciali distress), l'andamento modulatorio rilevato tra le condizioni di controllo successive al sorriso e le espressioni di sorriso era di tipo inibitorio (i dati hanno mostrato una evidente diminuzione dell'intensità della risposta nelle condizioni neutre successive alle espressioni di sorriso).

L'indagine delle risposte di startle elicitate in corrispondenza dell'esibizione di espressioni facciali di emozione (sorriso e distress) e di espressioni facciali caratterizzate da un rilassamento muscolare avvenute in stretta concomitanza temporale con i sorrisi ed i distress, ha messo in evidenza, per la prima volta in letteratura, un effetto modulatorio del tutto inaspettato esercitato dalle espressioni facciali di emozione. Nonostante, infatti, non sia stata riscontrata alcuna modificazione della risposta elicitata in concomitanza delle due espressioni facciali di emozione, queste, agendo come una sorta di *priming* motivazionale, sarebbero in grado di diversificare, a seconda del loro carattere negativo (distress) o positivo (sorriso), l'intensità della risposta di startle elicitata immediatamente dopo la loro esibizione: se dopo un'espressione di distress è stato registrato un incremento di intensità della risposta, dopo l'esibizione di un'espressione di sorriso è stata invece rilevata una diminuzione dell'intensità della risposta.

Il secondo studio del presente lavoro è stato invece dedicato all'indagine delle influenze modulatorie esercitate dalle condizioni attentive e dalle condizioni affettive sulla risposta di startle in infanti di 3 e di 5 mesi di vita. Grazie all'analisi degli stati attentivi, effettuata

mediante una codifica dei movimenti oculari degli infanti, e grazie ad un'analisi del comportamento affettivo, effettuata mediante una codifica delle espressioni di sorriso e di distress, è stato possibile in particolare indagare i ruoli giocati sia dal sistema attentivo sia dal sistema emozionale nella modificazione della risposta. A differenza del primo studio non è stata indagata la risposta di startle in concomitanza delle espressioni facciali di emozione, ma la codifica delle espressioni di sorriso e di distress è stata utilizzata per desumere il livello di affettività positiva e di affettività negativa esibita da ciascun infante.

I risultati ottenuti in questo secondo studio confermano una serie di dati già trovati in letteratura ed evidenziano inoltre dei nuovi effetti relativi all'interazione del sistema attentivo e del sistema emozionale nella modificazione della risposta di startle sia a 3 sia a 5 mesi di vita. Un primo risultato emerso dalle analisi, ha evidenziato un effetto modulatore dell'attenzione sul parametro della latenza (in particolare sulla latenza al picco). Sia a 3 mesi sia a 5 mesi di vita, la risposta di startle è risultata essere più veloce nella condizione di attenzione ancorata rispetto alla condizione di controllo. Tale risultato è in linea con i dati di Richards (1998, 2000), che hanno dimostrato una facilitazione nel parametro della latenza durante una condizione di ancoraggio attentivo a partire dai 3 mesi di vita. Questi risultati sono stati riscontrati indipendentemente dallo stato affettivo esibito dagli infanti. Le connessioni neurali tra le strutture del sistema attentivo e le strutture responsabili della risposta di startle sembrerebbero perciò essere già mature a 3 mesi di vita, ed in grado di modificare i parametri della risposta in modo indipendente rispetto all'attività delle strutture neurali di tipo emozionale.

Un secondo effetto molto interessante emerso in questo studio era che solamente il livello di affettività negativa esibito dagli infanti era in grado di modulare la risposta di startle. L'effetto dell'affettività negativa sulla risposta era tuttavia contraddistinto da due differenti pattern modulatore alle due età esaminate. In particolare, i bambini di 5 mesi che erano caratterizzati da un alto livello di affettività negativa, mostravano un potenziamento della risposta di startle rispetto ai bambini della stessa età caratterizzati da un basso livello di negatività. Nei bambini di 3 mesi invece tale pattern modulatore si invertiva: i bambini caratterizzati da un basso livello di affettività negativa mostravano un potenziamento della risposta di startle, rispetto ai bambini caratterizzati da un alto livello di negatività. Tale risultato replica alcuni dati di una precedente ricerca relativa alla modulazione affettiva di startle infantile (Dondi, 2008; Franchin, 2006), che dimostravano come gli effetti modulatore esercitati sulla risposta da uno stato emozionale negativo in infanti di 3 mesi di vita fossero esattamente opposti rispetto a quelli dimostrati dalla letteratura in infanti di 5 mesi di vita e

nell'adulto. La replica di tali risultati rafforza la convinzione che l'inversione nel pattern modulatorio che si verifica tra i 3 ed i 5 mesi possa rappresentare un indice della maturazione delle strutture cerebrali coinvolte nel circuito neurale responsabile della modulazione affettiva della risposta di startle. Si potrebbe quindi ipotizzare che tali strutture non abbiano ancora raggiunto una maturazione completa a 3 mesi di vita, ma la raggiungano proprio nel periodo compreso tra i 3 ed i 5.

A prescindere dai differenti pattern modulatori che caratterizzano le due età indagate, il fatto che solamente i due livelli dell'affettività negativa riuscissero a modificare la risposta di startle, avvalorerebbe l'ipotesi sostenuta da Witvliet e Vrana (1995), relativamente al fatto che la risposta di startle sia modulata principalmente dalla dimensione affettiva della negatività. Le analisi effettuate sulla dimensione dell'affettività positiva non hanno infatti rilevato, né a 3 né a 5 mesi di vita, alcun effetto della positività sulla risposta di startle. Tali dati inducono a sostenere che la dimensione dell'affettività negativa possa essere utilizzata come un efficace costrutto teorico in grado di spiegare il fenomeno della modulazione affettiva della risposta di startle nei primi mesi di vita.

Infine, un altro risultato di grande interesse scientifico emerso nel secondo studio, è quello relativo al fatto che l'effetto modulatorio dell'affettività negativa sulla risposta di startle, ad entrambe le età indagate, era presente solamente nella condizione di attenzione ancorata. Nonostante il differente effetto modulatorio esercitato dalla negatività alle due età indagate, la modulazione affettiva della risposta è emersa, sia a 3 sia a 5 mesi di vita, solamente nelle risposte elicitate durante una condizione di attenzione ancorata. Tale risultato mette in luce una sinergia del sistema attentivo e del sistema emozionale nel determinare il fenomeno della modulazione affettiva della risposta di startle. Grazie a tali risultati è possibile in particolare affermare che la modificazione della risposta da parte dello stato affettivo è strettamente dipendente dall'attività del sistema attentivo.

Sulla base dei risultati ottenuti in questi studi sperimentali, è possibile trarre alcune considerazioni di carattere generale. Innanzitutto, è possibile affermare che le metodologie proposte nel presente lavoro offrano delle valide soluzioni per indagare il fenomeno della modificazione della risposta di startle nei primi mesi di vita. Mediante la misurazione della risposta motoria di startle effettuata grazie all'utilizzo dell'AIMMSS, e l'indagine delle condizioni affettive positive e negative, effettuata grazie alla codifica delle espressioni facciali di sorriso e di distress, è stato possibile replicare alcuni effetti modulatori tipicamente associati all'influenza esercitata dagli stati emozionali (o meglio dagli stati motivazionali appetitivo ed aversivo; Lang, 1995) sulla risposta di startle. L'AIMMSS si riconferma perciò

(come era stato dimostrato nei precedenti studi; Agnoli et al., 2007; Dondi, 2008; Dondi et al., 2005; Franchin, 2006; Franchin et al., 2007) una valida metodologia misurativa in grado di rilevare in modo estremamente sensibile i parametri della risposta motoria di startle infantile. Inoltre, l'analisi delle espressioni facciali infantili si è rivelata una valida metodologia per l'indagine dell'attività emozionale nei primi mesi di vita. Grazie alla codifica delle espressioni facciali di sorriso e di distress è stato infatti possibile replicare alcuni risultati già presenti in letteratura, ed evidenziare nuovi interessanti effetti dovuti all'attività dei sistemi emozionale ed attentivo.

Innanzitutto il risultato emerso nel primo studio relativo all'influenza modulatoria esercitata dalle espressioni di sorriso e distress sulle risposte elicitate successivamente alla loro esibizione, apre nuovi interrogativi sul rapporto esistente tra espressioni facciali di emozione e sistemi motivazionali. Sorriso e distress sia a 3 sia a 5 mesi di vita sono ritenute essere due espressioni facciali strettamente ed esclusivamente connesse con uno stato emozionale positivo e negativo. Sulla base dei risultati ottenuti sorge naturale chiedersi il motivo per cui non sia emerso un effetto modulatorio dovuto all'attività dei due stati emozionali nelle risposte elicitate durante l'esibizione di sorriso e distress. Tuttavia il differente pattern modulatorio riscontrato nelle risposte successive all'esibizione di sorriso e di distress, testimonia come l'esibizione di queste espressioni sia in qualche modo connesso all'attività dei sistemi motivazionali appetitivo (alla base di uno stato emozionale positivo) ed avversivo (alla base di uno stato emozionale negativo) ipotizzati da Lang (1995). In studi futuri, sarebbe particolarmente interessante approfondire questo nuovo effetto mediante un'analisi che coinvolga bambini di diverse età, allo scopo di indagare lo sviluppo delle influenze modulatorie esercitate dalle espressioni facciali di emozione sulle risposte di startle. In questo modo sarebbe possibile dimostrare se l'effetto trovato in questo studio sia legato esclusivamente ai primi mesi di vita, oppure sia un pattern modulatorio caratteristico della risposta elicitata in corrispondenza dell'esibizione spontanea di espressioni facciali di emozione.

Grazie all'analisi delle espressioni facciali di sorriso e distress esibite da infanti di 3 e 5 mesi di vita è stato inoltre possibile dimostrare per la prima volta in letteratura una sinergia del sistema emozionale e del sistema attentivo nel determinare il fenomeno della modulazione affettiva della risposta di startle. Sebbene l'analisi della modulazione affettiva della risposta sia ritenuta essere dalla ricerca neuroscientifica una valida metodologia per l'indagine dell'attività dei sistemi motivazionali appetitivo ed avversivo, i risultati del secondo studio testimoniano come l'attività dei due sistemi sia strettamente dipendente dall'attività del

sistema attentivo. Sulla base di questi dati si potrebbe ipotizzare che le connessioni neurali esistenti tra sistema attentivo e sistemi motivazionali siano fondamentali nel consentire alle influenze modulatorie esercitate dagli stati affettivi di emergere. Questi risultati aprono quindi nuovi scenari non solo per la ricerca psicologica, ma anche per l'indagine neurofisiologica. In particolare, il risultato che dimostra come tale effetto interattivo sia presente già a 3 mesi di vita, allorquando sembrerebbe che il *network* neurale responsabile della modulazione affettiva della risposta di startle non sia ancora maturo, testimonierebbe come le connessioni esistenti tra sistema attentivo e sistema emozionale possano essere considerate come fondamenti elementari dell'architettura cerebrale.

È, quindi, auspicato un impegno da parte della ricerca neuroscientifica per sviluppare metodologie sempre più adatte all'indagine della modificazione dello startle nella primissima infanzia. La risposta di startle sembra infatti essere una valida sonda per lo studio di argomenti così affascinanti quali sono lo sviluppo del sistema affettivo e del sistema attentivo. L'utilizzo di tale sonda potrà inoltre offrire in futuro nuove possibilità per approfondire la nostra conoscenza relativamente all'interazione che caratterizza questi due sistemi sin dalle prime fasi dello sviluppo.



## Appendice teorica

### Una riflessione sull'utilità della modulazione affettiva della risposta di startle nell'indagine dello sviluppo emozionale

Nonostante le problematiche legate all'indagine della risposta di startle nella prima infanzia, i risultati ottenuti grazie all'utilizzo del paradigma dello *startle probe* inducono a credere che la risposta di startle possa rappresentare un marcatore biologico particolarmente adatto allo studio dello sviluppo. Soprattutto l'indagine dello sviluppo affettivo potrebbe trarre nuove preziose informazioni dall'utilizzo di tale paradigma e dall'adozione dell'approccio teorico proposto da Lang, la *Motivational Priming Hypothesis* (Lang, 1995).

L'indagine dello sviluppo emozionale, tuttavia, è un ambito di ricerca caratterizzato da un'estrema complessità. Alcuni preziosi suggerimenti per avvicinarsi allo studio di tale fenomeno possono essere tratti dalle indicazioni fornite da Camras e Witherington (2005) relativamente all'indagine della stabilità e del cambiamento nel comportamento emotivo nel corso dello sviluppo. Un'indicazione fondamentale fornita dai due autori è legata alla necessità di definire innanzitutto un livello d'analisi della propria indagine. Un sistema complesso può essere infatti considerato sia come un tutto di per sé, sia come una parte o una componente di un altro sistema (Camras & Witherington, 2005). È necessario perciò comprendere e definire il livello d'analisi consentito dall'approccio teorico e metodologico proposto da Lang (1995; Lang et al., 2000) ed adottato all'interno del presente lavoro. Definire il livello in cui verrà analizzato il complesso concetto delle emozioni, ci consentirà di comprendere con maggiore chiarezza l'utilizzo sperimentale del paradigma dello *startle probe*. Ogni fenomeno oggetto d'indagine necessita infatti di strumenti adeguati, ma nel contempo questi stessi strumenti non sono adatti ad indagare qualsiasi fenomeno. Utilizzando una metafora, per osservare il volo di un gabbiano è possibile utilizzare un binocolo, ma non è di certo il binocolo lo strumento più adeguato per osservare le termiche ascensionali che consentono al gabbiano di acquisire quota.

Come specificato anche in precedenza, secondo Lang, le emozioni rifletterebbero l'attivazione di due sistemi motivazionali di base, il sistema motivazionale aversivo ed il sistema motivazionale appetitivo, e sarebbero strutturate secondo le due dimensioni principali della valenza affettiva e dell'*arousal*. Sebbene egli affermi che le emozioni siano fenomeni assai complessi e dotati di un'alta variabilità nella loro espressione, secondo quest'autore la caratteristica in grado di specificare con maggiore chiarezza il comportamento emozionale

rimane l'attività dei due sistemi motivazionali di base (Lang, 1995; Lang et al., 2000). Secondo questa prospettiva, perciò, la *Motivational Priming Hypothesis* fornirebbe una base teorica adeguata per affrontare l'indagine del comportamento emotivo, la cui analisi potrebbe essere condotta mediante l'utilizzo dello *startle probe paradigm*.

Questa posizione teorica non è tuttavia esente da critiche. E' doveroso infatti sottolineare che, sebbene la spinta motivazionale sia una componente fondamentale del complesso comportamento emozionale, questa non è che una delle componenti che vanno a definire un'emozione. Una definizione particolarmente adatta a racchiudere la complessità di questo fenomeno è stata fornita da Battacchi, secondo il quale un'emozione è una "sindrome reattiva multicomponentiale" (Battacchi, 1988). Seppur infatti si possa affrontare l'indagine delle emozioni da prospettive differenti, la multicomponenzialità delle emozioni è un concetto ormai ampiamente condiviso e diffuso nella letteratura scientifica (v. Dondi, 1993). Secondo i diffusi modelli componenziali delle emozioni, accanto ad una valutazione cognitiva degli antecedenti situazionali, un'emozione sarebbe costituita anche da una componente fisiologica, una componente espressivo motoria, una componente motivazionale, ed una componente fenomenologica (Scherer, 1982, 2000). Il credere che il funzionamento di una singola componente, come ad esempio la componente motivazionale, possa essere preso a modello per comprendere il funzionamento della complessa "sindrome emozionale" è un errore derivante dall'exasperazione di una logica induttiva. Il ritenere cioè che si possa spiegare il tutto (o la complessità) attraverso l'analisi di una sua parte, sebbene sia una prassi assai comune anche nel pensiero scientifico moderno, è un errore di fondo nell'affrontare l'indagine di un sistema complesso, che spesso porta con sé lo spettro del riduzionismo.

Un principio che dovrebbe guidare ogni indagine che si approci alla complessità dovrebbe essere la terza regola del metodo scientifico presentata da Cartesio nel suo Discorso sul metodo più di quattro secoli fa (Cartesio, 1637/2002). Secondo tale regola, la ricerca della verità dovrebbe essere condotta affidandosi ad un pensiero ordinato, partendo dalle cose più semplici da comprendere, per raggiungere gradualmente conoscenze sempre più complesse<sup>5</sup>. Tale regola è stata assunta come principio fondamentale anche dalle neuroscienze affettive (Panksepp, 1996), un settore scientifico che si pone come ponte e punto di integrazione tra un approccio psicologico, comportamentale e neuroscientifico allo studio del comportamento affettivo. Lo studio della complessa "sindrome emozionale" ha spinto gli neuroscienziati affettivi ad indagare innanzitutto le fondamenta di tale fenomeno, individuando strutture

---

<sup>5</sup> Utilizzando le parole di Cartesio: "La terza, di condurre ordinatamente i miei pensieri cominciando dalle cose più semplici e più facili a conoscersi, per salire a poco a poco, come per gradi, sino alla conoscenza delle più complesse; supponendo altresì un ordine tra quelle che non si precedono naturalmente l'un l'altra" (Cartesio, 1637/2002).

neurali e comportamenti affettivi che gli esseri umani condividono con tutti gli altri mammiferi (vedi Burgdorf & Panksepp, 2006). Uno dei principi fondamentali delle neuroscienze affettive (e principale area d'indagine di tale disciplina) è il fatto che il mondo affettivo si regga su alcuni sistemi biocomportamentali di base, radicati in substrati neurali situati in zone “antiche” del cervello come il tronco dell'encefalo ed alcune strutture sottocorticali. L'analizzare il mondo affettivo al suo livello più semplice consentirebbe, secondo Panksepp (1998), di prevenire che l'analisi dei fenomeni emotivi risulti essere più complessa rispetto alle evidenze neuroscientifiche in nostro possesso<sup>6</sup>.

Esattamente a questo livello d'analisi del comportamento emozionale la *Motivational Priming Hypothesis* di Lang ed il paradigma dello *startle probe* possono rivelarsi particolarmente utili. Poiché il concetto di utilità è definibile in termini scientifici come la capacità di una ipotesi o di un modello teorico di effettuare predizioni corrette prima della sperimentazione (Berridge, 2004), la *Motivational Priming Hypothesis* si è rivelata e può tuttora rivelarsi scientificamente utile nell'indagine dei sistemi biocomportamentali di base (definiti, in particolare, da Lang sistema motivazionale appetitivo ed aversivo) e del loro legame con il comportamento affettivo. L'esperienza affettiva (*affect*), sia a livello cosciente, sia a livello non-cosciente (Berridge & Winkielman, 2003; Winkielman & Berridge, 2004), può essere definita come l'evidenza empirica dell'attività di questi sistemi biocomportamentali. Secondo Berridge (1999, 2004), ad esempio, ogni scopo di un'azione mossa da un sistema motivazionale di base elicitava una reazione affettiva. Secondo questo autore sarebbe infatti sorprendente che la selezione evolutiva abbia favorito all'interno dell'organizzazione cerebrale delle reazioni affettive così intense se tali processi edonici non avessero uno scopo o una conseguenza. Secondo Panksepp, in particolare, l'esperienza affettiva genererebbe direttamente dall'attività neurale di alcuni sistemi emozionali di base situati a livello sottocorticale e servirebbe la funzione principale di attrattore per un insieme di comportamenti stato-specifici e di attività cerebrali congruenti a tale stato mentale. Tale approccio si avvicina molto alla *Motivational Priming Hypothesis* proposta da Lang, a cui però viene aggiunta la nozione che l'innescò fondamentale, e collante primario dei comportamenti connessi ai due sistemi motivazionali, sia l'esperienza affettiva conseguente

---

<sup>6</sup> La necessità di ancorare la ricerca ontogenetica delle emozioni alla conoscenza delle strutture neurali ed il principio di partire da conoscenze più semplici per costruire una conoscenza più complessa, si ritrova anche nel pensiero di Dondi (2001), secondo il quale lo studio ontogenetico delle emozioni dovrebbe avvalersi di tre assunti fondamentali: 1. l'architettura cerebrale può porre dei vincoli biologici ai fenomeni psicologici; 2. la comprensione dell'organizzazione neurale alla base dei processi psicologici, può fornire nuovi spunti per comprendere il significato ed il funzionamento di quei processi; 3. gettare nuova luce sui processi di base della maturazione cerebrale può portare ad una maggiore comprensione dei meccanismi che controllano le funzioni mentali nell'adulto.

all'attivazione dei sistemi neurali di base. La soggettività legata agli stati affettivi ha determinato per anni un rifiuto di questi fenomeni nell'indagine scientifica. Oggi, di fronte alle evidenze empiriche degli studi neuroscientifici, nemmeno un comportamentista integralista potrebbe negare che i fenomeni affettivi non possano essere soggetti ad indagine scientifica. Nello studio neuroscientifico delle emozioni, le reazioni affettive a stimoli edonici hanno infatti ormai assunto un aspetto oggettivo proprio come la vista o la memoria. Studiosi come Damasio (1999) o LeDoux (1996, 2000), ad esempio, hanno dimostrato come le reazioni affettive negative come la paura possono essere studiate dalle neuroscienze in una modalità puramente obiettiva. Secondo LeDoux (2000), ad esempio, "...possiamo studiare il sistema della paura negli animali, anche se non possiamo provare che questi esperiscano il sentimento di paura" (p.131).

Come la *Motivational Priming Hypothesis* può fornire un contesto teorico adeguato per spiegare il funzionamento dei due sistemi motivazionali di base, il paradigma dello *startle probe*, attraverso la modulazione affettiva della risposta di startle, può fornire un indicatore oggettivo attraverso il quale indagare stati a tono edonico positivo o negativo, che testimoniano l'attività dei due sistemi motivazionali. Tale funzione dello startle può risultare fondamentale per l'indagine dell'attività dei due sistemi motivazionali di base nelle prime fasi dello sviluppo. Gli studi tradizionali sulle emozioni si sono focalizzati su soggetti adulti in grado di descrivere il proprio stato affettivo. Gli infanti e gli animali, poiché incapaci di parlare, sono stati perciò a lungo considerati come soggetti scarsamente utilizzabili, poiché non in grado di tradurre in parole i loro sentimenti. Tale svantaggio si annulla tuttavia se il nostro scopo di interesse sono i processi alla base del comportamento affettivo. Secondo Berridge (1999) la mancanza del linguaggio non è infatti un problema se i processi di interesse sono separati dall'introspezione soggettiva e, perciò, dai resoconti verbali. Le reazioni affettive derivanti dall'attività dei sistemi motivazionali di base sono spesso, come hanno dimostrato ad esempio Winkielman e Berridge (Berridge & Winkielman, 2003; Winkielman & Berridge, 2004), al di fuori della nostra consapevolezza, ed avvengono come processi non coscienti. Gli infanti nei primi mesi di vita potrebbero paradossalmente risultare, perciò, i migliori soggetti per indagare alcuni processi alla base del comportamento emozionale, poiché relativamente liberi dai fattori culturali che influenzano l'espressione, o l'inibizione, delle reazioni emozionali degli adulti (Berridge, 1999). Un indice in grado di fornire informazioni relativamente a questi processi di base, che risulti essere svincolato dal controllo intenzionale e da influenze di tipo culturale risulterebbe perciò uno strumento d'eccezione per indagare questi fenomeni nel primo sviluppo. Lo startle corrisponde

esattamente a tali requisiti. La risposta di startle (come in parte ha già dimostrato anche Balaban nel 1995) si pone, perciò, come uno strumento particolarmente adatto per indagare lo sviluppo dei sistemi motivazionali di base e del comportamento affettivo in età preverbale.



## Riferimenti bibliografici

- Agnoli, S., Dondi, M., Mendini, E., & Franchin, L. (2007). La risposta di trasalimento (startle) nella ricerca sulle prime fasi dello sviluppo umano: approccio medico e psicologico. *Giornale Italiano di Psicologia*, *34*, 303-329.
- Agnoli, S., Dondi, M., Franchin, L., & Stoppa, E. (in corso di stampa). Il riflesso di trasalimento (startle) come marcatore clinico-diagnostico per l'indagine neurologica e psicologica nel corso dello sviluppo. *Psicologia Clinica dello Sviluppo*.
- Agnoli, S., Franchin, L., Dondi, M., & Castellani, M. (2008). *The startle affective modulation: a probe to study the emotional facial expressions in early infancy*. Poster presentato alla XII European Conference of Facial Expression, Ginevra, Svizzera, 27-31 Luglio.
- Agnoli, S., Dondi, M., Franchin, L., & Scatturin, P. (2007). *A new non-invasive whole body acoustic startle protocol for early infancy*. Poster presentato alla 13th European Conference on Developmental Psychology (ECDP), Jena, Germania.
- Ainsworth, M. D. S., Blehar, M. C., Waters, E., & Wall, S. (1978). *Patterns of attachment: A psychological study of the strange situation*. Hillsdale, N.J.: Erlbaum.
- Ainsworth, M. D. S., & Witting, B. A. (1969). Attachment and the exploratory behavior of one year olds in a strange situation. In B. M. Foss (a cura di), *Determinants of infant behavior*, Vol. 4 (pp. 113-136). London: Methuen.
- Amiel-Tison, C. (1995). Clinical assessment of the infant nervous system. In M. I. Levene & R. J. Lilford (Eds.), *Fetal and neonatal neurology and neurosurgery*, 2nd ed. (pp. 83-104). London: Churchill Livingstone.
- Amiel-Tison, C. (2002). Update of the Amiel-Tison neurologic assessment for the term neonate or at 40 weeks corrected age. *Pediatric Neurology*, *27*, 196-212.
- Anday, E., Cohen, M. E., Kelley, N., & Hoffman, H. S. (1989). Sensory processing in the term and preterm infant: Use of reflex modification procedures. *Developmental Psychobiology*, *22*, 211-219.
- Anders, S., Weiskopf, N., Lule, D., & Birbaumer, N. (2004). Infrared oculography-validation of a new method to monitor startle eyeblink amplitudes during fMRI. *NeuroImage*, *22*, 767-770.
- Angrilli, A., Mauri, A., Palomba, D., Flor, H., Birbaumer, N., Sartori, G., di Paola F. (1996). Startle reflex and emotion modulation impairment after a right amygdala lesion. *Brain*, *119*, 1991-2000.

- Anthony, B. J., & Graham, F. K. (1983). Evidence for sensory-selective set in young infants. *Science*, *220*, 742-744.
- Anthony, B. J., & Graham, F. K. (1985). Blink reflex modification by selective attention: Evidence for the modulation of “automatic” processing. *Biological Psychology*, *21*, 43-59.
- Ashare, R. L., Hawk, L. W. & Mazzullo, R. J. (2007). Motivated attention: Incentive effects on attentional modification of prepulse inhibition. *Psychophysiology*, *44*, 839–845.
- Battacchi, M. W. (1988). *Trattato enciclopedico di psicologia dell'età evolutiva, Vol. 1.2*. Piccin-Nuova Libreria.
- Bakeman, R., & Gottman, J. (1986). *Observing interaction: An introduction to sequential analysis*. New York: Oxford University Press.
- Balaban, M. T. (1995). Affective influences on startle in five-month-old infants: Reaction to facial expression of emotion. *Child Development*, *66*, 28-36.
- Balaban, M. T. (1996). Probing basic mechanisms of sensory attentional, and emotional development: modulation of the infant blink response. In C. Rovee-Collier & L. P. Lipsitt (a cura di), *Advances in Infancy Research, Vol. 10* (pp. 219-256). Norwood, NJ: Ablex.
- Bellieni, C. V., Severi, F., Bocchi, C., Caparelli, N., Bagnoli, F., Buonocore, G., et al. (2005). Blink-startle reflex habituation in 30-34-week low-risk fetuses. *Journal of Perinatal Medicine*, *33*, 33-37.
- Berg, W. K., & Balaban, M. T. (1999). Startle elicitation: stimulus parameters, recording techniques, and quantification. In M. E. Dawson, A. M. Schell, & A. H. Böhmelt (a cura di), *Startle Modification. Implication for Neuroscience, Cognitive Science, and Clinical Science* (pp. 21-50). Cambridge: Cambridge University Press.
- Berridge, K. C. (1999). Pleasure, pain, desire, and dread: Hidden core processes of emotion. In D. Kahneman, E. Diener, & N. Schwarz (a cura di), *Well-Being: The foundations of hedonic psychology* (pp. 525-557). New York: Russel Sage Foundation.
- Berridge, K. C. (2004). Motivation concepts in behavioural neuroscience. *Physiology & Behavior*, *81*, 179-209.
- Berridge, K. C., & Winkielman, P. (2003). What is an unconscious emotion? (The case for unconscious “liking”). *Cognition and Emotion*, *17*, 181-211.
- Blumenthal, T. D., Cuthbert, B. N., Filion, D. L., Hackley, S., Lipp, O. V., & Van Boxtel, A. (2005). Committee report: Guidelines for human startle eyeblink electromyographic studies. *Psychophysiology*, *42*, 1–15.



- Blumenthal, T. D., & Goode, C. T. (1991). The startle eyeblink response to low intensity acoustic stimuli. *Psychophysiology*, *28*, 296–306.
- Bolzani, L., Messinger, D. S., Yale, M. E., & Dondi, M. (2002). Smiling in infancy. In M. H. Abel (a cura di), *An empirical reflection on the smile* (pp. 111-135). New York: The Edwin Mellen Press.
- Borod, J. C. (1992). Interhemispheric and intrahemispheric control of emotion: A focus on unilateral brain damage. *Journal of Consulting and Clinical Psychology*, *60*, 339-348.
- Borod, J. C. (1993). Emotion and the brain-Anatomy and theory: An introduction to the special section. *Neuropsychology*, *7*, 427-432.
- Bradley, M. M., Codispoti, M., Cuthbert, B. N., & Lang, P. J. (2001). Emotion and motivation I: defensive and appetitive reaction in picture processing. *Emotion*, *1*, 276-298.
- Bradley, M. M., Codispoti, M., & Lang, P. J. (2006). A multi-process account of startle modulation during affective perception. *Psychophysiology*, *43*, 486–497.
- Bradley, M. M., Cuthbert, B. N., & Lang, P. J. (1993). Pictures as prepulse: Attention and emotion in startle modification. *Psychophysiology*, *30*, 541-545.
- Bradley, M. M., Cuthbert, B. N., & Lang, P. J. (1995). Imagine that! Startle in action and perception. *Psychophysiology*, *32*, Suppl., S21.
- Bradley, M. M., Cuthbert, B. N., & Lang, P. J. (1999). Affect and the startle reflex. In M. E. Dawson, A. M. Schell, & A. H. Böhmelt (Eds.), *Startle modification: Implications for neuroscience, cognitive science, and clinical science* (pp. 157-183). New York, NY: Cambridge University Press.
- Brazelton, T. B. (1973). *Neonatal behavioral assessment scale*. Philadelphia: JB Lippincott.
- Brazelton, T. B. (1984). *Neonatal behavioral assessment scale. Second edition*. Philadelphia: JB Lippincott.
- Brown, J. S., Kalish, H. I., & Farber, I. E. (1951). Conditioned fear as revealed by the magnitude of startle response to an auditory stimulus. *Journal of Experimental Psychology*, *41*, 317-327.
- Burgdoff, J., & Panksepp, J. (2006). The neurobiology of positive emotions. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, *30*, 173-1887.
- Calvo, M. G., & Lang, P. J. (2004). Gaze Patterns When Looking at Emotional Pictures: Motivationally Biased Attention. *Motivation and Emotion*, *28* (3), 221-243.
- Camras, L. A. (1991). Conceptualizing early infant affect: View II and reply. In K. Strongman (a cura di), *International Review of Studies on Emotion*. New York: Wiley.

- Camras, L. A. (1992). Expressive development and basic emotions. *Cognition and Emotion*, 6, 269-283.
- Camras, L. A., Chen, Y., Bakeman, R., Norris, K., & Cain, T. R. (2006). Culture, Ethnicity, and Children's Facial Expressions: A Study of European American, Mainland Chinese, Chinese American, and Adopted Chinese Girls. *Emotion*, 6 (1), 103-114.
- Camras, L. A., & Witherington, D. C. (2005). Dynamical system approaches to emotional development. *Developmental Review*, 25, 328-350.
- Caplan, P. J., & Kinsbourne, M. (1976). Baby drops the rattle: Asymmetry of duration of grasp by infants. *Child Development*, 47, 532-534.
- Cartesio, R. (2002). *Discorso sul metodo*. Bompiani Editore. (Lavoro originale pubblicato nel 1637).
- Cassella, J. V., & Davis, M. (1986). The design and calibration of a startle measurement system. *Physiology and Behavior*, 36, 377-383.
- Codispoti, M., Bradley, M. M., & Lang, P. J. (2001). Affective reactions to briefly presented pictures. *Psychophysiology*, 38, 474-478.
- Cook, E. W., III, Hawk, L. W. Jr., Davis, T. L., & Stevenson, V. E. (1991). Affective individual differences and startle reflex modulation. *Journal of Abnormal Psychology*, 100, 5-13.
- Costa, M., & Ricci Bitti, P. E. (1998). Utilizzo del riflesso di startle per lo studio delle attività cognitive ed emozionali. *Giornale Italiano di Psicologia*, 25, 45-76.
- Cuthbert, B. N., Bradley, M. M., & Lang, P. J. (1996). Probing picture perception: Activation and emotion. *Psychophysiology*, 33, 103-111.
- Damasio, A. R. (1999). *The feeling of what happens: body and emotion in the making of consciousness*. New York: Harcourt Brace.
- Davidson, R. J. (1992). Prolegomenon to the structure of emotion: Gleanings from neuropsychology. *Cognition and Emotion*, 6 (3-4), 245-268.
- Davidson, R. J. (1993). Parsing affective space: Perspectives from neuropsychology and psychophysiology. Special section: Neuropsychological perspectives on components of emotional processing. *Neuropsychology*, 7 (4), 464-475.
- Davis, M. (1980). Neurochemical modulation of sensory-motor reactivity: acoustic and tactile startle reflexes. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 4(2), 241-63.
- Davis, M. (1984). The mammalian startle response. In R. C. Eaton (a cura di), *Neural mechanism of startle behavior* (pp. 287-351). New York: Plenum.

- Davis, M. (2006). Neural system involved in fear and anxiety measured with fear-potentiated startle. *American Psychologist*, 61 (8), 738-756.
- Davis, M., & Astrachan, D. I. (1978). Conditioned fear and startle magnitude: Effects of different footshock or backshock intensities used in training. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*, 4, 95-103.
- Davis, M., Gendelman, D. S., Tischler, M. D. & Gendelman, P. M. (1982). A primary acoustic startle circuit: lesion and stimulation studies. *Journal of Neuroscience*, 6, 791-805.
- Davis, M., Falls, W. A., Campeau, S., & Kim, M. (1993). Fear-potentiated startle: a neural and pharmacological analysis. *Behavioural brain research*, 58(1-2), 175-98.
- Davis, M., Hitchcock, J. M., & Rosen, J. B. (1987). Anxiety and the amygdala: pharmacological and anatomical analysis of the fear-potentiated startle paradigm. In H. Bower Gordon (a cura di), *The Psychology of Learning and Motivation: advances in research and theory*, Vol. 21 (pp. 263-305). San Diego, CA, US: Academic Press.
- Davis, M., Yang, Y., Shi, C. J., Zhao, Z. (2004). Opiate receptors in the medial nucleus of the amygdala inhibition expression of fear-potentiated startle. Unpublished observations.
- Dawson, M. E., Schell, A. M., & Böhmelt, A. H. (1999). *Startle modification: implication for neuroscience, cognitive science, and clinical science*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Dondi, M. (1993). Le emozioni nel periodo neonatale. Antiche dispute e nuove prospettive. *Giornale Italiano di Psicologia*, 20, 549-576.
- Dondi, M. (1999). Maturità e specificità del comportamento facciale nelle più precoci fasi dello sviluppo. *Giornale Italiano di Psicologia*, 26, 23-53.
- Dondi, M. (2001). Sviluppo emotivo tra scienze cognitive e psicobiologia. *Giornale Italiano di Psicologia*, 28, 253-280.
- Dondi, M., Agnoli, S., Vacca, T., Franchin, L., & Scatturin, P. (2005, Luglio). *Startle reflex modification by attention and affective state in three and five-month-old infants*. Poster presentato alla XIV Conferenza della International Society for Research on Emotion (ISRE), Bari, Italia.
- Dondi, M., Franchin, L., Agnoli, S., Vacca, T., & Scatturin, P. (2005, Settembre). *Non-invasive measurements of the startle response in the early infancy*. Poster presentato alla XI European Conference of Facial Expression, Durham, UK.

- Dondi, M. (2008). *Facial Expressions and the Affective Modulation of The Startle Reflex in Early Infancy*. Comunicazione orale presentata alla XII European Conference of Facial Expression, Ginevra, Svizzera, 27-31 Luglio.
- Dondi, M., Costabile, A., Vacca, T., Franchin, L., Agnoli, S., Lombardi, O., & Corchia, C. (2008). Alle origini delle emozioni: uno studio pilota sul sorriso e sull'espressione facciale di distress nel neonato pretermine di età gestazionale molto bassa. *Psicologia Clinica dello Sviluppo*, 12 (1), 89-109.
- Dondi, M., Franchin, L., Agnoli, S., Vacca, T., & Scatturin, P. (2005, Settembre). *Non-invasive measurements of the startle response in the early infancy*. Poster presentato alla XI European Conference of Facial Expression, Durham, UK.
- Ekman, P. (1972). Universals and cultural differences in facial expressions of emotion. In J. Cole (a cura di), *Nebraska Symposium on Motivation 1971*, vol. 19 (pp. 207-283). Lincoln, NE: University of Nebraska Press.
- Ekman, P., & Friesen, W.V. (1978). *The Facial Action Coding System (FACS)*. Palo Alto: Consulting Psychologists Press.
- Ekman, P., Friesen, W.V., & Hager, J. C. (2002). *Facial Action Coding System (FACS)*. Salt Lake City, UT: Research Nexus division of Network Information Research Corporation.
- Ekman, P., Friesen, W.V., & Simons, R. C. (1985). Is the Startle Reaction an Emotion? *Journal of Personality and Social Psychology*, 49(5), 1416-1426.
- Engen, R., Levy, N., & Schlosberg, H. (1958). The dimensional analysis of a new series of facial expressions. *Journal of Experimental Psychology*, 55, 454-458.
- Erberich, S. G., Panigrahy, A., Friedlich, P., Seri, I., Nelson, M. D., & Gilles, F., (2006). Somatosensory lateralization in the newborn brain. *NeuroImage*, 29, 155-161.
- Essex, M. J., Goldsmith, H. H., Smider, N. A., Dolski, I., Sutton, S. K., & Davidson R. J. (2003). Comparison of video – and EMG – based evaluations of the magnitude of children's evolution – modulated startle response. *Behavior research methods, instruments, & computers*, 35(4), 590-598.
- Filion, D. L., Dawson, M. E., & Schell, A. M. (1993). Modification of the acoustic startle-reflex eyeblink: A tool for investigating early and late attentional processes. *Biological Psychology*, 35, 185-200.
- Filion, D. L., Dawson, M. E., & Schell, A. M. (1998). The psychological significance of human startle eye-blink modification: a review. *Biological Psychology*, 47, 1-43.

- Franchin, L. (2006). A new non-invasive measurement of the startle response in early infancy: a scientific contribution to the study of startle lateralization and affective modulation. Tesi di dottorato.
- Franchin, L., Dondi, M., Agnoli, S., & Scatturin, P. (2007). *Postural and Facial Asymmetries of the Startle Response in 5-Month-Old Infants*. Poster presentato alla 13th European Conference on Developmental Psychology (ECDP), Jena, Germania.
- Frankland, P. W., & Yeomans, J. S. (1995). Fear-potentiated startle and electrically evoked startle mediated by synapses in rostralateral midbrain. *Behavioral Neuroscience, 109*, 669-680.
- Frijda, N. H. (1986). *Emozioni*. Bologna: Il Mulino.
- Frijda, N. H., & Tcherkassof, A. (1997). Facial expressions as modes of action readiness. In J.A. Russell, J.M. Fernandez-Dols (a cura di), *The Psychology of Facial Expression* (pp. 78–102). Cambridge: Cambridge University Press.
- Gard, D. E., Germans Gard, M., Mehta, N., Kring, A. M., & Patrick, C. J. (2007). Impact of motivational salience on affect modulated startle at early and late probe times. *International Journal of Psychophysiology, 66*, 266–270.
- Graham, F. K. (1975). The more or less startling effects of weak prestimulation. *Psychophysiology, 12*, 238-248.
- Graham, F. K. (1992). Attention: The heartbeat, the blink, and the brain. In B. A. Campbell, H. Hayne, & R. Richardson (a cura di), *Attention and information processing in infants and adults: Perspective and human and animal research* (pp. 3-29). Hillsdale, NJ: Lawrence Erlbaum Associates.
- Graham, F. K. (1997). Afterword: Pre-attentive processing and passive and active attention. In P. J. Lang, R. F. Simons, & M. T. Balaban (a cura di), *Attention and orienting: Sensory and motivational processes* (417-452). New Jersey: Lawrence Erlbaum Associates.
- Graham, F. K., & Hackley, S. A. (1991). Passive and active attention to input. In J. R. Jennings & M. G. H. Coles (a cura di), *Handbook of cognitive psychophysiology: Central and autonomic nervous system approaches* (pp. 251-356). New York: Wiley.
- Graham, F. K. Strock, B. D., & Ziegler, B. L. (1981). Excitatory and inhibitory influences on reflex responsiveness. In W. A. Collins (a cura di), *Minnesota symposium on child psychology: Vol. 14; Aspects of the development of competence* (pp. 1-38). Hillsdale, NJ: Erlbaum.

- Grattan, M. P., De Vos, E., Levy, J., & McClintock, M. K. (1992). Asymmetric action in the human newborn: sex differences in patterns of organization. *Child Development, 63*, 273-289.
- Grillon, C. (2008). Greater Sustained Anxiety but Not Phasic Fear in Women Compared to Men. *Emotion, 8* (3), 410–413.
- Grillon, C., & Baas, J. (2003). A review of the modulation of the startle reflex by affective states and its application in psychiatry. *Clinical Neurophysiology, 114*, 1557-1579.
- Groome, L. J., Gotlieb, S. J., Neely, C. L., & Waters, M. D. (1993). Developmental trends in fetal habituation to vibroacoustic stimulation. *American Journal of Perinatology, 10*, 46-49.
- Hager, J. C., & Ekman, P. (1985). The asymmetry of facial actions is inconsistent with models of hemispheric specialization. *Psychophysiology, 22* (3), 307-318.
- Haviland, J. M., & Lelwica, M. (1987). The induced affect response: 10-week-old infants' responses to three emotion expressions. *Developmental Psychology, 23*, 97-104.
- Hawk, L. W., Stevenson, V. E., & Cook, E. W., III. (1992). The effects of eyelid closure on affective imagery and eyeblink startle. *Journal of Psychophysiology, 6*, 299–310.
- Heponiemi, T., Ravaja, N., Elovainio, M., Naatanen, P., & Keltikangas-Jarvinen, L. (2006). Experiencing positive affect and negative affect during stress: Relationships to cardiac reactivity and to facial expressions. *Scandinavian Journal of Psychology, 47*, 327-337.
- Hillman, C. H., Hsiao-Wecksler, E. T., & Rosengren, K. S. (2005). Postural and eye-blink indices of the defensive startle reflex. *International Journal of Psychophysiology, 55*, 45-49.
- Hillman, C. H., Rosengren, K. S., & Smith, D. P. (2004). Emotion and motivated behaviour: postural adjustments to affective picture viewing. *Biological Psychology, 66*, 51-62.
- Hirshfeld, D. R., Rosenbaum, J. F., Biederman, J., Bolduc, E. A., Faraone, S. V., Snidman, N., et al. (1992). Stable behavioral inhibition and its association with anxiety disorder. *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry, 31*, 103-111.
- Hoffman, H. S. (1997). Attentional factors in the elicitation and modification of the startle reaction. In P. J. Lang, R. F. Simons, & M. T. Balaban (a cura di), *Attention and orienting: Sensory and motivational processes* (pp. 185-204). New Jersey: Lawrence Erlbaum Associates.
- Hoffman, J. E. (1998). Visual attention and eye movements. In H. Pashler (a cura di), *Attention* (pp. 119–153). Hove, UK: Psychology Press.

- Hoffman, H. S., Cohen, M. E., & Anday, E. K. (1987). Inhibition of the eyeblink reflex in the human infant. *Developmental Psychobiology*, 20, 277-283.
- Hoffman, J. E., & Subramaniam, B. (1995). The role of visual attention in saccadic eye movements. *Perception & Psychophysics*, 57 (6), 787-795.
- Hoshi, Y., & Chen, S. J. (2002). Regional cerebral blood flow changes associated with emotions in children. *Pediatric Neurology*, 27 (2), 275-281.
- Hunt, W., & Landis, C. (1936). Studies of the startle pattern: I. Introduction. *The Journal of Psychology*, 2, 201-205.
- Hunt, W. A., Clarke, F., & Hunt, E. (1936). Studies of startle pattern: Infants. *The Journal of Psychology*, 2, 339-352.
- Ison, J. R. & Hoffman, H. S. (1983). Reflex modification in the domain of startle: II. The anomalous history of a robust and ubiquitous phenomenon. *Psychological Bulletin*, 94, 3-17.
- Izard, C. E. (1978). On the ontogenesis of emotions and emotion-cognition relationship in infancy. In M. Lewis, L. A. Roseblum (a cura di), *The Development of Affect*. New York: Plenum Press.
- Izard, C. E. (1982). *Measuring emotions in infants and children* (vol.1). Cambridge: Cambridge University Press.
- Izard, C. E. (1984). Emotion-cognition relationship and human development. In C. E. Izard, J. Kagan, R. B. Zajonc, *Emotions in Personality and Psychopathology*. Cambridge University Press.
- Izard, C. E., Dougherty, L. M., & Hembree, E. (1983). *A Sistem for Identifying Affect Expressions by Holistic Judgments (AFFEX)*. Newark: Instructional Resource Center, University of Delaware.
- Kagan, J., Reznick, J. S., & Snidman, N. (1987). The physiology and psychology of behavioral inhibition in children. *Child Development*, 58, 1459-1473.
- Kagan, J., Reznick, J. S., & Snidman, N. (1988). Biological basis of childhood shyness. *Science*, 240, 167-171.
- Kagan, J., & Snidman, N. (1991). Temperamentally factors in human development. *American Psychologist*, 46, 856-862.
- Kettle, J. W. L., Andrewes, D. G., & Allen, N. B. (2006). Lateralization of the startle reflex circuit in humans: An examination with monaural probes following unilateral temporal lobe resection. *Behavioral Neuroscience*, 120 (1), 24-39.
- Koch, M. (1999). The neurobiology of startle. *Progress in Neurobiology*, 59, 107-128.

- Koch, M. and Schnitzler, H. U. (1997). The acoustic startle response in rats-circuits mediating evocation, inhibition and potentiation. *Behavioral Brain Research*, 89, 35-49.
- Kochanska, G., Coy, K. C., Tjebkes, T. L., & Husarek, S. J. (1998). Individual differences in emotionality in infancy. *Child Development*, 64 (2), 375-390.
- Kuhlman, K. A., Burns, K. A., Depp, R., & Sabbagha, R. E. (1988). Ultrasonic imaging of normal fetal response to external vibratory acoustic stimulation. *American Journal of Obstetric and Gynecology*, 158, 47-51.
- Landis, C., & Hunt, W. (1936). Studies of the startle pattern: III. Facial pattern. *The Journal of Psychology*, 2, 215-219.
- Landis, C., & Hunt, W. (1939). *The startle pattern*. New York: Farrar and Rinehart.
- Lane, R. D., Reiman, E. M., Bradley, M. M., Lang, P. J., Ahern, G. L., Davidson, R. J., et al. (1997). Neuroanatomical correlates of pleasant and unpleasant emotion. *Neuropsychologia*, 35 (11), 1437-1444.
- Lang, P. J. (1995). The emotion probe. Studies of motivation and attention. *American Psychologist*, 50, 372-385.
- Lang, P. J., & Bradley, M. M. (1994). Measuring emotion: The self-assessment manikin and the semantic differential. *Journal of Behavior Therapy & Experimental Psychiatry*, 25 (1), 49-59.
- Lang, P. J., Bradley, M. M., & Cuthbert, B. N. (1997). Motivated attention: Affect, activation, and action. In P. J. Lang, R. F. Simons, & M. Balaban, (a cura di), *Attention and orienting* (pp. 97-135). New Jersey: Lawrence Erlbaum Associates.
- Lang, P. J., Bradley, M. M., & Cuthbert, B. N. (1998). Emotion and attention: Stop, look, and listen. *Current Psychology of Cognition*, 17 (4-5), 997-1020.
- Lang, P.J., & Davis, M. (2006). Emotion, motivation, and the brain: reflex foundations in animal and human research. *Progress in Brain Research*, 156, 3-29.
- Lang, P. J., Davis, M., & Öhman, A. (2000). Fear and anxiety: animal models and human cognitive psychophysiology. *Journal of Affective Disorders*, 61, 137-159.
- Lang, P. J., Greenwald, M. K., Bradley, M. M., & Hamm, A. O. (1993). Looking at pictures: Affective, facial, visceral, and behavioral reactions. *Psychophysiology*, 30, 261-273.
- Lang, P. J., Simons, R. F., & Balaban, M. T. (a cura di) (1997). *Attention and orienting: Sensory and motivational processes*. New Jersey: Lawrence Erlbaum Associates.



- Langsdorf, P., Izard, C., Rayais, M., & Hembree, E. (1983). Interest expression, visual fixation, and heart rate changes in 2- to 8-month-old infants. *Developmental Psychology*, *19*, 375-386.
- Leaton, R. N., & Borszcz, G. S. (1985). Potentiated startle: Its relation to freezing and shock intensity in rats. *Animal Behavior Processes*, *11*, 421-428.
- LeDoux, J. E. (1996). *The emotional brain: The mysterious underpinnings of emotional life*. New York: Simon and Schuster (trad. it.: *Il cervello emotivo. Alle origini delle emozioni*, Milano: Baldini & Castoldi, 1998).
- LeDoux, J. E. (2000). Cognitive-emotional interactions: listen to the brain. In R. D. Lane, L. Nadel, G. Ahern (a cura di), *Cognitive neuroscience of emotion* (pp. 129-155). New York: Oxford University Press.
- LeDoux, J. E. (1998). *Il cervello emotivo. Alle origini delle emozioni*. Milano: Baldini Castaldi Dalai.
- Lilley, C. M., Craig, K. D., & Grunau, R. E. (1997). The expression of pain in infants and toddlers: development changes in facial action. *Pain*, *72*, 161-170.
- Lingenhohl, K., & Friauf, E. (1994). Giant neurons in the rat reticular formation: a sensorimotor interface in the elementary acoustic startle circuit? *Journal of Neuroscience*, *14*, 1176-1194.
- Lipp, O. V., Neumann, D. L., Siddle, D. A. T., & Dall, P. J. (2001). Assessing the effects of attention and emotion on startle eyeblink modulation. *International Journal of Psychophysiology* *15*, 173–182.
- Lissek, S., Baas, J. M. P., Pine, D. S., Orme, K., Dvir, S., Nugent, M., et al. (2005). Airpuff startle probes: an efficacious and less aversive alternative to white-noise. *Biological Psychology*, *68*, 283-297.
- Lovelace, C. T., Elmore, W. R., & Filion, D. L. (2006). Infrared reflectance as an alternative to EMG for measuring prepulse inhibition of startle eyeblink. *Psychophysiology*, *43*, 511-515.
- Maier, K., Ambühl-Caesar, G., & Schandry, R. (a cura di) (1998). *Psicofisiologia dello sviluppo*. Bologna: Zanichelli Editore.
- Mastropieri, D., & Turkewitz, G. (1999). Prenatal experience and neonatal responsiveness to vocal expressions of emotion. *Developmental Psychobiology*, *35*, 204–214.
- Matsumoto, D. (1993). Ethnic differences in affective intensity, emotion judgments, display rule attitudes, and self-reported emotional expression in an American sample. *Motivation and Emotion*, *17*, 107-123.

- McDowell, J. E., Brown, G. G., Lazar, N., Camchong, J., Sharp, R., Krebs-Thomson, K., et al. (2006). The neural correlates of habituation of response to startling tactile stimuli presented in a functional magnetic resonance imaging environment. *Psychiatry Research: Neuroimaging*, *148*, 1–10.
- McManis, M. H., Bradley, M. M., Berg, K., Cuthbert, B. N., & Lang, P. J. (2001). Emotional reaction in children: Verbal, physiological, and behavioural responses to affective pictures. *Psychophysiology*, *38*, 222-231.
- Meincke, U., Light, G. A., Geyer, M. A., Braff, D. L. (2005). On the Waveform of the Acoustic Startle Blink in the Paradigm of prepulse Inhibition – Methodological and Physiological Aspects. *Neuropsychobiology*, *52*, 24–27.
- Messinger, D. S. (2002). Positive and negative: Infant facial expressions and emotions. *Current Directions in Psychological Science*, *11*, 1-6.
- Ornitz, E. M. (1999). Startle modification in children and developmental effects. In M. E. Dawson, A. M. Schell, & A. H. Böhmel (a cura di), *Startle modification: Implication for neuroscience, cognitive science, and clinical science* (pp. 245-266). US: Cambridge University Press.
- Ornitz, E. M., Guthrie, D., Kaplan, A. R., Lane, S. J., & Norman, R. J. (1986). Maturation of startle modulation. *Psychophysiology*, *23*, 624-634.
- Ornitz, E. M., Russell, A. T., Yuan, H, & Liu, M. (1996). Autonomic, electroencephalographic, and myogenic activity accompanying startle and its habituation during mid-childhood. *Psychophysiology*, *33*, 507-513.
- Oster, H. (1978). Facial expression and affect development. In M. Lewis, L. A. Roseblum (a cura di), *The Development of Affect*. New York: Plenum Press.
- Oster, H. (2005). The repertoire of infant facial expressions: An ontogenetic perspective. In J. Nadel, & D. Muir (a cura di), *Emotional development* (pp. 261-292). New York: Oxford University Press.
- Oster, H. (in corso di stampa). *Baby FACS: Facial Action Coding System for infants and young children*. Draft version revised April 2007.
- Panksepp J. (1998). *Affective neuroscience: the foundations of human and animal emotions*. New York and Oxford: Oxford University Press.
- Plutchik, R. (1994). *The psychology and biology of emotion*. New York: Harper Collins.
- Prechtl, H. F. R., & Beintema, D. (1964). *The Neurological Examination of the Full Term Newborn Infant*. London: Heinemann.

- Richards, J. E. (1997). Peripheral stimulus localization by infants: Attention, age and individual differences in heart rate variability. *Journal of Experimental Psychology: Human Perception and Performance*, *23*, 667-680.
- Richards, J. E. (1998). Development of selective attention in young infants: Enhancement and attenuation of startle reflex by attention. *Developmental Science*, *1* (1), 45-51.
- Richards, J. E. (2000). Development of multimodal attention in young infants: Modification of the startle reflex by attention. *Psychophysiology*, *37*, 65-75.
- Rinn, W. E. (1984). The neuropsychology of facial expression: A review of the neurological and psychological mechanisms for producing facial expressions. *Psychological Bulletin*, *95* (1), 52-77.
- Rizzolatti, G., Riggio, L., Dascola, I., & Umiltà, C. (1987). Reorienting attention across the vertical and horizontal meridians: Evidence in favor of a premotor theory of attention. *Neuropsychologia*, *25*, 31-40.
- Rönqvist, L. (1995). A critical examination of the Moro response in newborn infants—symmetry, state relation, underlying mechanisms. *Neuropsychologia*, *33*(6), 713-726.
- Rönqvist, L., & Hopkins, B. (1998). Head position preference in the human newborn: a new look. *Child Development*, *69*(1), 13-23.
- Rosenstein, D., & Oster, H. (1988). Differential facial responses to four basic tastes in newborns. *Child Development*, *59*, 1555-1568.
- Russell, J. A. (1979). Affective space is bipolar. *Journal of Personality and Social Psychology*, *37*, 345-356.
- Russell, J. A. (1980). A circumplex model of affect. *Journal of Personality and Social Psychology*, *39*, 1161-1178.
- Russell, J. A., (2003). Core Affect and the Psychological Construction of Emotion. *Psychological Review*, *110*(1), 145-172.
- Sanchez-Navarro, J. P., Martinez-Selva, J. N., & Roman, F. (2005). Emotional response in patients with frontal brain damage: Effects of affective valence and information content. *Behavioral Neuroscience*, *119* (1), 87-97.
- Santesso, D. L., Reker, D. L., Schmidt, L. A., & Segalowitz, S. J. (2006). Frontal electroencephalogram activation asymmetry, emotional intelligence, and externalizing behaviors in 10-year-old children. *Child Psychiatry and Human Development*, *36*(3), 311-328.
- Scanlon, J. W., Nelson, T., Grylack, I., & Smith, Y. (1979). *A System of newborn physical examination*. Baltimore: University Park Press.

- Schafer, R. J., & Moore, T. (2007). Attention Governs Action in the Primate Frontal Eye Field. *Neuron*, *56*, 541–551.
- Scherer, K. R. (1982). Emotion as a process: Function, origin, and regulation. *Social Science Information*, *21*, 555-570.
- Scherer, K. R., (2000). Psychological models of emotion. In J. Borod (a cura di), *The Neuropsychology of Emotion* (pp. 137–162). Oxford/New York: Oxford University Press.
- Schmidt, L. A., & Fox, N. A. (1998). Fear–potentiated startle responses in temperamentally different human infants. *Developmental Psychobiology*, *32*, 113-120.
- Schmidt, L. A., Fox, N. A., Rubin, K. H., Sternberg, E. M., Gold, P. W., Smith, C. C., et al. (1997). Behavioral and neuroendocrine responses in shy children. *Developmental Psychobiology*, *30*, 127-140.
- Schmidt, L. A., Fox, N. A., Schulkin, J., & Gold, P. W. (1999). Behavioral and psychophysiological correlates of self-presentation in temperamentally shy children. *Developmental Psychobiology*, *35*, 119-135.
- Schneirla, T. (1959). An evolutionary and developmental theory of biphasic processes underlying approach and withdrawal. In M. Jones (Ed.), *Nebraska Symposium on Motivation*. Lincoln: University of Nebraska Press.
- Sechenov, I. M. (1965). *Reflexes in the brain*. (S. Belsky, Trad.). Cambridge, Mass: MIT Press. (Lavoro originale pubblicato nel 1863, San Pietroburgo: Sushchinski).
- Simion, F., Valenza, E., Umiltà, C. (1995). Inhibition of return in newborns is temporo-nasal asymmetrical. *Infant Behavior and Development*, *18*, 189-194.
- Sininger, Y. S., & Cone-Wesson, B. (2006). Lateral asymmetry in the ABR of neonates: Evidence and mechanisms. *Hearing Research*, *212*, 203–211.
- Schupp, H. T., Cuthbert, B. N., Bradley, M. M., Hillman, C. H., Hamm, A. O., & Lang, P. J. (2004). Brain processes in emotional perception: Motivated attention. *Cognition and Emotion*, *18* (5), 593-611.
- Springer, U. S., Rosas, A., McGetrick, J. & Bowers, D. (2007). Differences in Startle reactivity During the Perception of Angry and Fearful Faces. *Emotion*, *7* (3), 516–525.
- Steiner, J. E. (1973). The gustofacial response: Observation on normal and anencephalic newborn infants. *Symposium on Oral Sensation and Perception*, *4*, 254-278.
- Steiner, J. E. (1979). Human facial expressions in response to taste and smell stimulation. *Advances in Child Development and Behavior*, *13*, 257-295.

- Steiner, J. E., Glaser, D., Hawilo, M. E., & Berridge, K. C. (2001). Comparative expression of hedonic impact: affective reactions to taste by human infants and other primates. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, *25*, 53-74.
- Valenza, E., Simion, F., & Umiltà, C. (1994). Inhibition of return in newborn infants. *Infant Behavior and Development*, *17*, 291-300.
- Vrana, S. R. (1995). Emotional modulation of skin conductance and eyeblink responses to a startle probe. *Psychophysiology*, *32*, 351-357.
- Vrana, S. R., & Lang, P. J. (1990). Fear imagery and the startle-probe reflex. *Journal of Abnormal Psychology*, *99*, 189-197.
- Walker, D. L., & Davis, M. (1997). Anxiogenic effects of high illumination levels assessed with the acoustic startle paradigm. *Biological Psychiatry*, *42*, 461-471.
- Walker, D. L., & Davis, M. (2002). Light-enhanced startle: further pharmacological and behavioral characterization. *Psychopharmacology*, *159*, 304-310.
- Waters, A. M., Lipp, O. V., & Spence, S. H. (2005). The effects of affective picture stimuli on blink modulation in adults and children. *Biological Psychology*, *68*, 257-281.
- Watson, D., & Tellegen, A. (1985). Toward a consensual structure of mood. *Psychological Bulletin*, *98*, 219-235.
- Watson, D., Wiese, D., Vaidya, J., & Tellegen, A. (1999). The two general activation system of affect: Structural findings, evolutionary considerations, and psychobiological evidence: The structure of emotion. *Journal of personality and social psychology*, *76* (5), 820-838.
- Winkielman, P. C., & Berridge K. (2004). Unconscious Emotion. *Current Directions in Psychological Science*, *13*(3), 120-123.
- Winslow, J. T., Parr, L. A., & Davis, M. (2002). Acoustic startle, prepulse inhibition, and fear-potentiated startle measured in rhesus monkeys. *Biological Psychiatry*, *51*, 859-866.
- Witvliet, C., & Vrana, S. R. (1995). Psychophysiological responses as indices of affective dimensions. *Psychophysiology*, *32*, 436-443.
- Yeomans, J. S., & Pollard, B. A. (1993). Amygdala efferents mediating electrically evoked startle-like responses and fear potentiation of acoustic startle. *Behavioral Neuroscience*, *107*, 596-610.
- Yeomans, J. S., & Frankland, P. W. (1996). The acoustic startle reflex: neurons and connections. *Brain Research Reviews*, *21*, 301-314.

Yeomans, J. S., Li, L., Scott, B. W., & Frankland, P. W. (2002). Tactile, acoustic and vestibular system sum to elicit the startle reflex. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 26, 1-11.