



UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PADOVA

Dipartimento di Psicologia Generale

Dipartimento di Psicologia dello Sviluppo e della Socializzazione

Corso di Laurea Magistrale in Neuroscienze e Riabilitazione Neuropsicologica

Tesi di laurea Magistrale

**La modulazione del riflesso di startle durante l'anticipazione dello stress sociale:
uno studio pilota**

**The modulation of the startle reflex during the anticipation of social stress: a pilot
study**

Relatore

Prof.ssa Paola Sessa

Correlatore

Dott. Antonio Maffei

Laureanda: Silvia Campolo

Matricola: 2055665

Anno Accademico 2022/2023

INDICE

CAPITOLO 1	1
1. Il riflesso di startle	1
1.1. Che cosa è?	1
1.2. Principali aree di indagine	1
1.2.1. Attenzione.....	2
1.2.2. Modulazione emotiva dello startle	3
1.2.3. Fear-potentiated startle	4
1.3. Correlati neurali dello startle	6
1.3.1. Il circuito neurale dello startle uditivo.....	6
1.3.2. Il circuito neurale del fear-potentiated startle.....	7
1.3.3. Il ruolo dell'amigdala	8
1.4. Lo startle e la psicopatologia	9
1.4.1. I disturbi psichiatrici.....	9
1.4.2. Disturbi d'ansia e i soggetti a rischio	11
2. Lo stress.....	13
2.1. La sindrome generale di adattamento	13
2.2. La neurobiologia dello stress.....	15
2.2.1. Il sistema nervoso autonomo e l'asse HPA	15
2.2.2. Il processo di innesco della risposta di stress	17
2.2.3. Il circuito limbico della risposta di stress	18
2.2.4. Il sistema di interruzione della risposta di stress	19
2.3. Le funzioni del sistema di risposta allo stress	20
3. La relazione tra il riflesso di startle e lo stress	21
3.1. Modulazione del riflesso di startle in seguito a stressor fisici.....	22
3.1.1. Il Cold Pressor Test e il riflesso di startle.....	22
3.2. Modulazione del riflesso di startle a seguito di stressor psicologici	24
4. Scopi della ricerca	25
CAPITOLO 2	26
1. Metodo.....	26
1.1. Partecipanti	26
1.2. Protocollo sperimentale	26
1.3. Startle probe.....	27
1.4. Registrazione segnali fisiologici.....	28
1.5. Questionario self-report.....	28
1.6. Preprocessing del segnale elettromiografico	28

1.7. Analisi statistica dei dati elettromiografici.....	30
1.8. Analisi statistica dei dati self-report	30
CAPITOLO 3.....	31
1. Risultati analisi dei dati self-report.....	31
2. Risultati analisi dei dati elettromiografici	32
CAPITOLO 4.....	34
1. Discussione.....	34
2. Limiti	37
3. Prospettive future e possibili applicazioni alla psicopatologia.....	37
BIBLIOGRAFIA	39

CAPITOLO 1

1. Il riflesso di startle

1.1. Che cosa è?

Il riflesso di startle è descritto in letteratura come una risposta difensiva che si attiva nell'individuo allo scopo di facilitare una risposta di flight, ossia di fuga, o di proteggere l'organismo da una potenziale minaccia alla sua integrità (Grillon & Baas, 2003): ha una natura automatica e riflessiva per cui non è posta sotto il controllo intenzionale.

Il pattern specifico consiste in un movimento in avanti della testa e una reazione discendente dell'onda flessoria che coinvolge il tronco fino ad arrivare alle ginocchia (Lang, Bradley & Cuthbert, 1990; Grillon et al., 2003).

La componente principale che è maggiormente evidente e persistente è una rapida contrazione del muscolo *orbicularis oculi*, che viene elicitato attraverso la presentazione di uno stimolo rumoroso improvviso, detto probe, per una durata di circa 50 ms e che ha un'intensità variabile tra i 90 e i 110 dB. La latenza del riflesso varia da 20 a 50 ms a seconda del tipo di stimolazione che viene proposta e dallo stato emotivo in cui si trova il soggetto nel momento in cui la riceve. Viene misurato attraverso la tecnica dell'elettromiografia ponendo due elettrodi sotto l'occhio in corrispondenza del muscolo.

Tra le caratteristiche che rendono il riflesso di startle particolarmente interessante da misurare in relazione allo stato emotivo e allo stato attentivo, sia normali che anormali, emergono la sua facile abituaione a seguito della presentazione di più stimoli in intervalli di breve durata tra l'uno e l'altro e la sua altrettanto veloce disabituaione che permette di evocarolo più volte in breve tempo (Lang et al., 1990).

1.2. Principali aree di indagine

Prendendo in considerazione tutte le caratteristiche sopra descritte, il riflesso di startle è stato, nel tempo, utilizzato sempre di più come indicatore di vari processi psicologici.

In particolare, le aree di indagine in cui lo startle ha trovato maggiore spazio per essere approfondito sono quelle relative alla modulazione attentiva e a quella affettiva.

1.2.1. Attenzione

In letteratura, sono presenti diversi studi che si sono concentrati sul descrivere la relazione tra il riflesso di startle e l'orientamento dell'attenzione. Fra questi, Graham ha condotto vari studi che prevedono la presentazione di brevi stimoli probe, elicitanti il riflesso di startle, mentre il soggetto è impegnato nello svolgimento di compiti che modulano in maniera differente il suo focus attentivo (Anthony & Graham, 1985).

Coerentemente con le ipotesi che l'autore ha formulato, si osserva che l'ampiezza del riflesso di startle è modulata in base a dove il soggetto orienta l'attenzione: se la presentazione del probe viene precedentemente segnalata, il soggetto focalizza l'attenzione sul suo arrivo e, di conseguenza, l'ampiezza dello startle è maggiore. Al contrario, se lo stimolo elicitante sopraggiunge senza essere prima anticipato da un segnale, l'individuo orienta la sua attenzione sul segnale che indica l'inizio dello svolgimento del compito principale e, quindi, lo startle ha un'ampiezza ridotta. Questo orientamento dell'attenzione verso lo stimolo è dimostrato anche dalla forte decelerazione della frequenza cardiaca che si manifesta subito prima del compito (Lang et al., 1990).

All'interno di questo quadro teorico, sono stati condotti anche degli studi per spiegare l'attenzione cross-modale: durante questi esperimenti, l'attenzione dei soggetti era rivolta verso lo svolgimento di un compito principale di tipo visivo o uditivo mentre i probes venivano presentati o nella stessa modalità del compito principale oppure in quella opposta. Basandosi sull'ipotesi secondo la quale le risorse attentive sono limitate e collocate a priori in accordo con la modalità, gli autori hanno osservato che quando i soggetti sono coinvolti in compiti visivi hanno a disposizione poche risorse per il sistema uditivo e, quindi, la risposta di startle al probe uditivo è più attenuata. I riflessi di blink sono più piccoli e più lenti quando la modalità di presentazione del probe e la stimolazione di base non corrispondono.

1.2.2. Modulazione emotiva dello startle

Gli effetti di modulazione del riflesso di startle in funzione del carico attentivo, tuttavia, per essere compresi, devono essere valutati prendendo in considerazione anche il significato emotivo dello stimolo presentato al soggetto in concomitanza con il probe elicitante lo startle.

Gli stimoli emotivi sono, tipicamente, definiti da due dimensioni, ossia la valenza e l'arousal. Nello specifico, per valenza si intende "la disposizione dell'organismo ad assumere un insieme di comportamenti difensivi o appetitivi" (Lang et al., 1990) mentre l'arousal "è la disposizione dell'organismo a reagire con diversi gradi di energia o forza" (Lang et al., 1990).

Facendo riferimento a queste due dimensioni degli stati emotivi, Vrana, Spence e Lang hanno condotto uno studio per spiegare la relazione tra gli stati affettivi e il riflesso di startle. L'esperimento prevedeva la presentazione di immagini che avevano valenza positiva, negativa o neutra in concomitanza con la somministrazione improvvisa di probe di 50 ms a 95 dB. I risultati confermano l'ipotesi formulata dagli autori riguardo l'esistenza di una relazione lineare tra lo startle e la componente affettiva degli stimoli: l'ampiezza dell'eyeblick, infatti, è diminuita quando vengono presentate le diapositive con contenuto piacevole mentre è aumentata quando al soggetto vengono mostrate le immagini a contenuto spiacevole (Vrana et al., 1988). Questi risultati ottenuti nell'uomo riflettono quelli che altri autori avevano già osservato negli studi condotti sui ratti. Inizialmente, la relazione tra lo startle e il contenuto affettivo delle immagini è stata spiegata facendo riferimento alla teoria attentiva, precedentemente illustrata: l'inibizione dello startle di fronte alla visione delle immagini piacevoli è il risultato di un maggiore coinvolgimento dell'attenzione verso lo stimolo visivo lasciando poche risorse disponibili per l'elaborazione del probe acustico che elicitava lo startle (Vrana et al., 1988).

Questo modello potrebbe essere utile per spiegare la facilitazione del riflesso conseguente alla presentazione delle immagini spiacevoli se si assumesse che gli stimoli spiacevoli vengono implicitamente rifiutati dall'organismo per cui

le risorse attentive vengono distolte dall'immagine negativa e vengono impiegate per l'elaborazione del probe acustico generando un aumento dell'ampiezza dello startle. In quest'ottica, la teoria attentiva descrive il rifiuto dello stimolo associato ad una accelerazione cardiaca mentre l'orientamento dell'attenzione dello stimolo è accompagnato da una decelerazione della frequenza cardiaca: negli studi che sono stati condotti, tuttavia, la visione delle slides a contenuto negativa è associata ad un'ampia decelerazione cardiaca fornendo un risultato opposto rispetto a quello atteso in relazione alla teoria.

Lang ha proposto, dunque, una spiegazione che permette di chiarire sia l'inibizione che il potenziamento dello startle osservati in relazione al contenuto emotivo degli stimoli. Secondo questo approccio, la modificazione del riflesso è il risultato di una corrispondenza della risposta sinergica, ossia dalla corrispondenza tra lo startle e la valenza dello stimolo di base: la valenza affettiva dell'immagine genera una risposta positiva di approccio allo stimolo oppure negativa, di evitamento (Lang et al., 1990). Questa teoria è in linea con la definizione che Sokolov (1965) ha dato del riflesso di startle come di una "risposta di difesa", un set di comportamenti che l'organismo mette in atto in maniera automatica per proteggersi da potenziali minacce alla sua integrità.

1.2.3. Fear-potentiated startle

Una forma particolare di startle modulato dallo stato affettivo che è stata ampiamente studiata è il fear-potentiated startle.

La paura condizionata è un paradigma sviluppato nell'ambito del condizionamento classico che viene utilizzato per spiegare quegli effetti comportamentali che sono il prodotto di una ripetuta associazione tra uno stimolo inizialmente neutrale con uno stimolo avversivo, quale una luce molto forte o uno shock elettrico: lo shock genera un set di comportamenti che possono essere considerati come indicatori di uno stato centrale di paura. Dopo l'associazione dello stimolo avversivo con uno inizialmente neutro, come un fascio di luce, quest'ultima, anche quando viene presentata singolarmente, induce nel soggetto l'attivazione degli stessi comportamenti

prodotti dallo shock. Successivamente, è stato osservato che questi comportamenti sono molto simili a quelli che vengono valutati e presi in considerazione per la diagnosi di ansia generalizzata nell'uomo (Davis, Falls, Campeau & Kim, 1993).

Questo paradigma è stato successivamente utilizzato in vari studi in relazione con il riflesso di startle. I primi esperimenti sono stati condotti sui ratti. In particolare, Brown, Kalish e Farber (1951) hanno condotto un esperimento durante il quale condizionavano un gruppo di ratti ad avere paura di uno shock presentando uno stimolo luminoso neutrale associato con uno stimolo avversivo non condizionato, ossia uno shock elettrico. Successivamente, il riflesso di startle veniva elicitato attraverso la presentazione improvvisa di rumori molto forti generati con una pistola giocattolo (Lang et al., 1990; Grillon et al., 2003). I risultati di questo esperimento dimostrano che il riflesso di startle era molto più ampio quando il probe veniva presentato in concomitanza con lo stimolo condizionato. È stato, inoltre, osservato che il fear-potentiated startle presenta anche una specificità temporale, ossia la sua ampiezza è massima nel momento in cui l'animale stava aspettando di ricevere lo shock: per questo motivo, il riflesso può essere considerato come una misura attendibile dell'ansia o della paura anticipatoria (Davis et al., 1993).

Successivamente, questi studi sono stati replicati anche sugli esseri umani: Davis et al. hanno utilizzato la componente dello startle dell'eyeblick come misura dell'ansia anticipatoria. Hanno posto degli elettrodi sui polsi dei soggetti ai quali veniva detto se avrebbero ricevuto o meno degli shock dolorosi mentre lo startle veniva elicitato attraverso la presentazione di probe acustici improvvisi. I risultati osservati sono in linea con quelli già ottenuti negli studi con i ratti: l'ampiezza del riflesso era maggiore nel periodo immediatamente precedente alla stimolazione dolorosa mentre il soggetto aspettava di ricevere riceverla rispetto a quando sapeva che non l'avrebbe ricevuta (Davis et al., 1993). Questo studio dimostra che la sola anticipazione dello shock è sufficiente per aumentare la componente dello startle dell'eyeblick nell'essere umano, rendendola una misura sensibile dell'ansia

anticipatoria. In aggiunta, si è osservato che, nei soggetti normotipici, i livelli di ansia tendono a diminuire molto velocemente quando viene presentato un segnale che indica la fine della minaccia di shock (Davis et al., 1993).

1.3. Correlati neurali dello startle

Dal punto di vista neurale, la paura, nel contesto del potenziamento dello startle, è regolata da alcuni circuiti attivati dallo stimolo condizionato visivo e dallo stimolo incondizionato che poi convergono a livello dei nuclei laterali e basolaterali dell'amigdala che inviano le informazioni al nucleo centrale per convergere, infine, nel percorso dello startle uditivo (Davis et al., 1993).

1.3.1. *Il circuito neurale dello startle uditivo*

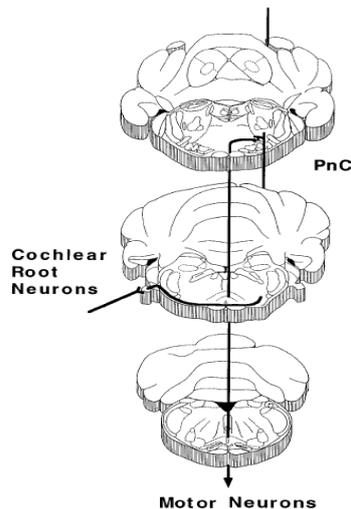


Figura 1. Diagramma rappresentante il circuito primario dello startle acustico che comprende i neuroni della radice cocleare, la parte ventrolaterale del nucleo del ponte caudale e gli assoni che proiettano ai motoneuroni della spina dorsale (Lee, Lopez, Meloni & Davis, 1996).

Il riflesso acustico di startle ha una latenza molto breve, segno che sono necessarie poche sinapsi per mediarlo. Il circuito neurale, infatti, parte dal nucleo cocleare ventrale che è connesso all'area mediale rispetto al nucleo ventrale del lemnisco laterale. Quest'ultima invia le informazioni all'area dorsale alle olive superiori nel nucleo reticolare del ponte caudale che, a sua volta, trasmette le informazioni attraverso le sinapsi con i motoneuroni della spina dorsale. A dimostrazione del coinvolgimento di questi nuclei nel riflesso di startle, è stato osservato che una lesione a livello di una qualsiasi

di queste strutture porta all'eliminazione del riflesso, fenomeno che non si osserva, invece, quando un danno colpisce qualsiasi altra area uditiva o motoria.

Il nucleo reticolare del ponte caudale, quindi, rappresenta la struttura principale che media il riflesso di startle: studi recenti hanno sottolineato che lo startle coinvolge un continuum di cellule presenti all'interno di questa struttura cerebrale e che, da solo, è sufficiente per mediarlo ricevendo input diretti dal nucleo cocleare senza la necessità di sinapsi intermedie (Davis et al., 1993).

1.3.2. Il circuito neurale del fear-potentiated startle

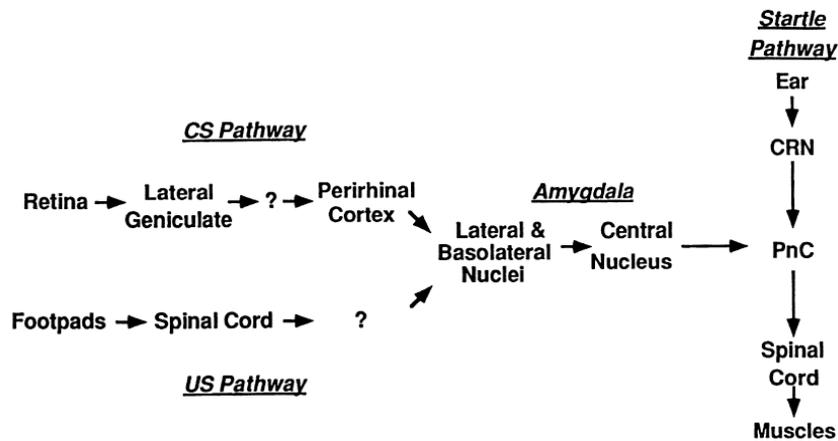


Figura 2. Diagramma rappresentante i percorsi neurali coinvolti nel fear-potentiated startle utilizzando uno stimolo condizionato visivo (Walker, Cassella, Lee, De Lima & Davis, 1997).

Lo startle potenziato dalla paura comprende due percorsi neurali distinti. Il primo riguarda lo stimolo visivo condizionato, ossia la luce: questo viene percepito a livello della retina, dalla quale le informazioni vengono inviate prima al nucleo genicolato laterale e, poi, alla corteccia peririnale. Il secondo, invece, è quello che media lo stimolo non condizionato, vale a dire lo shock, che coinvolge i motoneuroni della spina dorsale. Entrambe queste vie convergono nell'amigdala prima a livello dei nuclei laterali e basolaterali per, poi, successivamente proiettare le informazioni al suo nucleo centrale.

A questo punto, i percorsi neurali degli stimoli che caratterizzano il paradigma della paura condizionata si inseriscono all'interno di quello che

regola il riflesso di startle: le informazioni, una volta elaborate dall'amigdala, vengono inviate a un nucleo specifico del circuito che media il riflesso, ossia il nucleo reticolare del ponte caudale (Davis et al., 1993).

1.3.3. Il ruolo dell'amigdala

Sono stati condotti diversi studi sui ratti che hanno evidenziato il ruolo centrale dell'amigdala e delle sue proiezioni nell'espressione e nell'acquisizione della paura condizionata. Nello specifico, questi esperimenti prevedevano il condizionamento degli animali a stimoli avversivi e, successivamente, dopo aver indotto una lesione a livello di un'area specifica dell'amigdala, venivano testati per lo startle potenziato con l'obiettivo di stabilire il ruolo di quell'area nel determinare il riflesso. Come sopra illustrato, le informazioni ottenute dall'elaborazione degli stimoli condizionato e non condizionato convergono a livello dei nuclei laterali e basolaterali i quali, a loro volta, le proiettano al nucleo centrale e, in ultima istanza, alle diverse aree ipotalamiche e del tronco encefalico coinvolte nella paura e nell'ansia.

Dagli studi sulle lesioni, è emerso che danni provocati a livello del nucleo centrale dell'amigdala generano il blocco del riflesso di startle potenziato.

Il nucleo centrale dell'amigdala invia le informazioni, che ha precedentemente ricevuto ed elaborato, a varie regioni cerebrali attraverso due vie efferenti, quella della stria terminale e quella amigdalofugale ventrale. È presente, inoltre, una via diretta che connette il nucleo centrale e la parte specifica del nucleo reticolare del ponte caudale critica per lo startle, ossia l'area dorsale delle olive superiori. Gli studi dimostrano che lesioni a livello della stria terminale non bloccano lo startle potenziato mentre quelle alla parte caudale del percorso ventrale amigdalofugale lo bloccano completamente. Allo stesso modo, danni alla porzione di sostanza grigia che riceve le proiezioni dal nucleo centrale interrompono del tutto il riflesso.

Altre evidenze che dimostrano il ruolo centrale dell'amigdala provengono dagli studi che hanno utilizzato tecniche di stimolazione elettrica: è stato osservato che questa struttura cerebrale, se stimolata, genera dei

comportamenti simili alla paura sia negli animali che negli esseri umani. È sufficiente, infatti, una stimolazione elettrica debole dell'amigdala per fare in modo che l'ampiezza dello startle aumenti marcatamente (Davis et al., 1993).

1.4. Lo startle e la psicopatologia

La letteratura, oltre a studiare il riflesso di startle nei soggetti tipici, si è occupata anche di spiegare la modulazione del riflesso in relazione alla psicopatologia. Rispetto alla psicopatologia, l'osservazione che lo startle è modulato dalla paura, dall'ansia e dai vari stati emotivi, in generale, suggerisce che le anomalie nella risposta del riflesso potrebbero essere correlate alla presenza di disturbi emotivi. In aggiunta, gli studi sullo startle sono considerati utili per misurare la reattività emotiva rilevante per l'eziologia e il mantenimento della psicopatologia.

1.4.1. I disturbi psichiatrici

Tra i disturbi psichiatrici, la psicopatia, la depressione maggiore, il disturbo da personalità borderline e la schizofrenia sono stati approfonditi rispetto alla loro relazione con il riflesso di startle.

Patrick e i suoi collaboratori hanno condotto degli studi su soggetti affetti da psicopatia, una patologia caratterizzata da comportamenti antisociali e distacco emotivo. Gli autori hanno osservato che esiste una relazione quadratica per la quale l'ampiezza dello startle è ridotta sia quando i soggetti osservano immagini piacevoli sia quando vedono quelle spiacevoli. Questa reattività anormale allo startle può essere ricondotta alla componente di distacco emotivo: la risposta ridotta del riflesso a stimoli avversivi è dovuta a un deficit della reattività alla paura tipico di questa popolazione di pazienti (Grillon et al., 2003).

Il pattern di reattività allo startle opposto, invece, si osserva nei soggetti affetti da depressione maggiore: di fronte alla visione di immagini neutre, piacevoli e spiacevoli i pazienti non mostrano differenza nella risposta di startle. Nelle analisi successive che prendono in considerazione anche la gravità dei sintomi, si riscontra una distinzione per cui i pazienti che hanno livelli di depressione moderata presentano un pattern di startle normale mentre quelli con depressione più grave mostrano un aumento del riflesso quando

osservano immagini piacevoli. Questa modulazione anomala dello startle è conseguente al fatto che le immagini piacevoli vengono valutate come avversive e costituisce una caratteristica di tratto della depressione.

In questa popolazione di pazienti, inoltre, la reattività allo startle è maggiormente ridotta rispetto a quella del gruppo di controllo: questo fenomeno potrebbe essere riconducibile a un effetto attentivo per cui i pazienti allontanano sistematicamente l'attenzione dagli stimoli ambientali, compreso anche lo stimolo uditivo che elicitava il riflesso. L'iporeattività osservata potrebbe anche essere una manifestazione del ritardo psicomotorio, tipico del quadro della depressione maggiore (Grillon et al., 2003).

Infine, la modulazione affettiva dello startle è stata studiata in relazione al disturbo di personalità borderline e alla schizofrenia: rispetto al primo, è emerso che i pazienti hanno una normale modulazione affettiva dello startle (Grillon & Baas, 2003).

In relazione alla schizofrenia, invece, gli studi riportano che i pazienti non mostrano un potenziamento dello startle (Grillon et al., 2003): facendo riferimento all'espressione emotiva, si osserva che i soggetti con appiattimento emotivo presentano una normale modulazione mentre i soggetti che mantengono la capacità di espressione emotiva hanno un pattern anormale di modulazione. Tuttavia, gli studi condotti più recentemente non confermano i risultati ottenuti: questa discrepanza è comprensibile nell'ottica per cui la schizofrenia è un disturbo molto eterogeneo caratterizzata da sintomi positivi e negativi che hanno un diverso impatto sulla modulazione dello startle. Le differenze nella reattività affettiva, infatti, emergono nel momento in cui i pazienti vengono divisi in sottogruppi. In questa prospettiva, lo startle può essere una misura utile per suddividere i pazienti in base ai sintomi specifici che caratterizzano il quadro clinico di ciascuno (Grillon et al., 2003).

1.4.2. Disturbi d'ansia e i soggetti a rischio

I disturbi d'ansia sono un gruppo di patologie tra le prime ad essere state indagate in relazione alla modulazione affettiva del riflesso di startle. Esiste

una distinzione ben chiara tra paura e ansia: la prima, infatti, è una risposta fasica associata a una fonte che è ben identificabile mentre la seconda è una sensazione persistente e generalizzata di apprensione non associata ad uno stimolo specifico, è indicata come “paura senza oggetto” (Grillon et al., 2003).

Facendo riferimento a questa differenziazione, la paura legata ad uno specifico stimolo genera un aumento dell’ampiezza dello startle mentre l’apprensione generalizzata per la presentazione successiva di uno stimolo avversivo incrementa la reattività al riflesso (Grillon, 2002; Grillon et al., 2003).

Tra i disturbi compresi in questo gruppo, sono stati posti a confronto le fobie specifiche e il Disturbo Post-traumatico da Stress (PTSD): le prime sono caratterizzate dalla paura per un elemento specifico e ben identificabile mentre il secondo si distingue per la presenza di comportamenti di evitamento e una condizione di iperattivazione seguente ad un evento traumatico. Quello che si è osservato in relazione al riflesso di startle è che i pazienti di entrambi i gruppi mostrano un potenziamento di esso.

Nello specifico, gli studi condotti sugli animali sono utili e forniscono diverse spiegazioni al potenziamento dello startle nei pazienti con PTSD: una parte della letteratura afferma che i soggetti sani presentano un certo grado di variabilità rispetto al riflesso di startle, dunque, una spiegazione plausibile potrebbe essere che i soggetti che incorrono in PTSD sono coloro che hanno, di base, un livello di reattività allo startle più elevato (Grillon et al., 2003).

Un’altra motivazione fa riferimento, invece, a una progressiva sensibilizzazione del riflesso di startle dovuta all’esposizione ad uno stress prolungato indotto dal trauma.

Esiste, inoltre, una distinzione tra i soggetti con PTSD recente e quelli con PTSD più duraturo: la risposta di startle potenziata, infatti, è maggiormente evidente nel primo gruppo piuttosto che nel secondo. In quest’ultimo, la risposta esagerata di startle rappresenta uno stato acuto di paura o ansia generato dallo stress rispetto ad un ambiente che è considerato come minaccioso o da uno stimolo specifico che rievoca il trauma vissuto.

I risultati così ottenuti nei vari studi permettono di concludere che la sintomatologia del PTSD segue un andamento preciso: l'evento traumatico dà inizio ad un processo di sensibilizzazione che porta ad un aumento dello startle che, poi, progressivamente si riduce quando il trauma diventa sempre più distante a livello temporale. A quel punto, la risposta esagerata di startle diventa un sintomo fasico che si attiva di fronte alla presentazione di stimoli correlati al trauma o di ambienti stressanti (Grillon et al., 2003).

Sempre in relazione al PTSD, sono presenti studi che, ponendo a confronto i pazienti già sottoposti a trattamento con quelli non trattati, riportano che la risposta di startle è simile nei due gruppi facendo emergere l'ipotesi che il riflesso non sia influenzato dai farmaci che vengono impiegati per il trattamento (Grillon et al., 2003). Infine, alcuni studi condotti su soggetti vittime di aggressioni da parte del partner e punizioni fisiche durante l'infanzia riportano, al contrario di quanto descritto fino ad ora, una riduzione dello startle: questo potrebbe indicare che i sintomi del PTSD sono differenti nei bambini e nelle vittime di stressor cronici. Una delle spiegazioni fornite si ricollega alle caratteristiche di chiusura sia cognitiva che comportamentale di queste persone, mentre altri autori riconducono questa inibizione alla presenza di sintomi depressivi in comorbidità (Grillon et al., 2003).

È presente, poi, un gruppo di studi che riporta una relazione tra i tratti negativi che predispongono gli individui a disturbi d'ansia e il riflesso di startle. Alcuni di questi affermano che, quando ai soggetti vengono mostrati degli stimoli che hanno una valenza negativa, gli alti tratti di paura sono associati ad un aumento della modulazione dello startle affettivo (Grillon et al., 2003). Al contrario, quelli che si sono occupati di misurare anche i livelli di ansia non mostrano gli stessi risultati. Una spiegazione per questa differenza è che, essendo lo startle inteso come una risposta difensiva, il concetto della paura permette di descrivere meglio quelle caratteristiche che sono sensibili alla modulazione affettiva dello startle. Dall'altro lato, quando vengono utilizzati stimoli specifici, la grandezza dello startle varia in funzione della paura soggettiva da loro elicitata. In aggiunta, gli studi condotti sui bambini ad alto rischio di incorrere in un disturbo d'ansia in quanto figli di persone già affette

da un disturbo d'ansia sottolineano che la tendenza a reagire paurosamente a situazioni che, per gli altri, sono solo mediamente sfidanti costituisce un fattore di rischio per lo sviluppo di disturbi d'ansia.

Sono presenti, inoltre, delle differenze di genere: le femmine ad alto rischio presentano un pattern di startle potenziato dalla paura normale e quello di baseline elevato. I maschi ad alto rischio, invece, mostrano il pattern inverso (Grillon et al., 2003). Questa differenza inter-genere indica che la vulnerabilità ai disturbi d'ansia è caratterizzata da una sensibilità alla paura e all'ansia che si differenzia in base al genere.

2. Lo stress

Lo stress è un fenomeno estremamente complesso e multilivello che viene definito come “una risposta psicologica e fisiologica che l'individuo mette in atto nel momento in cui si trova di fronte ad uno stressor interno o esterno, ossia un evento o un oggetto che viene percepito come minaccioso” («Stress», s.d.). È un fenomeno che prevede “cambiamenti che coinvolgono ogni sistema del corpo, influenzando come le persone percepiscono e si comportano” («Stress», s.d.).

2.1. La sindrome generale di adattamento

Il concetto di stress è stato introdotto per la prima volta nel 1936 da Hans Selye che lo ha descritto come “una risposta aspecifica dell'organismo ad ogni richiesta effettuata su di esso” (Selye, 1936).

Partendo dall'assunzione che ogni essere vivente è in grado di rispondere allo stress e che il pattern di risposta è sempre lo stesso indipendentemente dallo stimolo che ha generato la reazione, l'autore introduce il concetto di Sindrome Generale di Adattamento (SGA): qualsiasi elemento che genera stress mette a rischio la vita dell'individuo e presuppone, dunque, che l'essere vivente metta in atto delle risposte di adattamento alle quali contribuiscono tutti gli organi vitali.

La Sindrome Generale di Adattamento (SGA), dunque, è la risposta fisiologica che l'organismo mette in atto quando si interfaccia con uno stressor e comprende tre fasi: la reazione di allarme, la resistenza e l'esaurimento. La prima comprende un'iniziale reazione di shock caratterizzata da una diminuzione della temperatura corporea, del tono muscolare, della pressione sanguigna e perdita di acqua seguita

da un'attivazione del sistema nervoso simpatico che aumenta la produzione di ormoni corticosurrenali responsabili delle risposte difensive quali la risposta di attacco-fuga. La resistenza prevede la stabilizzazione di livelli fisiologici elevati mentre lo stadio di esaurimento è caratterizzato dalla perdita delle capacità adattive quando le condizioni di stress sono prolungate («Stress», s.d.; Selye, 1950).

Le misure di difesa sono co-ordinate dai centri ipotalamici e dall'ipofisi: gli impulsi nervosi e umorali attivano il sistema ipotalamo-ipofisi che predispone il corpo alla difesa. Da lì, il sistema attiva a sua volta i sistemi nervoso ed endocrino. I centri ipotalamici stimolano gli organi periferici che, a loro volta, stimolano il midollo surrenale a rilasciare gli ormoni adrenergici, in particolare adrenalina e noradrenalina, nel flusso sanguigno. I cambiamenti maggiori determinati dall'azione di questi ormoni si osservano a livello della contrattilità muscolare: grazie alla vasocostrizione adrenergica, aumenta la resistenza periferica e la pressione sanguigna. Questa risposta ipertensiva è accentuata dall'aumento del volume cardiaco e dall'apertura dello "shunt renale". Si osserva, inoltre, un rilascio colinergico simultaneo: l'attivazione contemporanea degli agonisti e degli antagonisti permette di stabilizzare gli organi target di fronte a stimoli forti che potrebbero causare ampie deviazioni dalla norma. Questa contemporanea attivazione riflette la contrazione sia dei muscoli estensori che di quelli flessori che permette all'organismo di spostarsi in qualsiasi momento. La risposta principale della sindrome generale di adattamento, dunque, è caratterizzata da una vasocostrizione e un'ipertensione difensiva (Selye, 1950).

A livello endocrino, lo stress è caratterizzato da una riduzione della produzione di gonadotropine e un aumento dell'ormone adrenocorticotropo (ACTH): quest'ultimo stimola la corteccia surrenale a produrre i glucocorticoidi che modulano la resistenza in diversi modi (Selye, 1950).

2.2. La neurobiologia dello stress

Il modello dello stress proposto da Selye rappresenta il punto di inizio per la pubblicazione di molti studi che si sono occupati di approfondire il costrutto e di descrivere il circuito neurobiologico sottostante.

Biologicamente, le risposte di stress consistono “nell’attivazione dei sistemi neurobiologici che aiutano a mantenere l’omeostasi” (Gunnar & Quevedo, 2007) e in un “reale o anticipata rottura dell’omeostasi o una minaccia anticipata al benessere dell’individuo” (Ulrich-Lai & Herman, 2009).

Il cervello attiva delle risposte di stress che sono proporzionate alla natura degli stimoli: gli stressor di tipo fisico richiedono una risposta immediata che è modulata dai meccanismi riflessi mentre quelli di tipo psicogeno necessitano di un’elaborazione a livello del proencefalo le cui risposte possono presentarsi in anticipazione o in reazione all’evento scatenante (Ulrich-Lai et al., 2009).

2.2.1. Il sistema nervoso autonomo e l’asse HPA

Gli assi simpatico-surrenale midollare (SAM) e ipotalamo-ipofisi-surrene (HPA) sono i sistemi principali per il mantenimento o il ripristino dell’omeostasi durante lo stress.

Il sistema nervoso autonomo (SNA), rappresentato nella parte sinistra dell’immagine sottostante, fornisce una risposta immediata all’esposizione allo stressor attraverso l’attivazione sia del ramo simpatico che di quello parasimpatico che alterano velocemente lo stato fisiologico tramite l’innervazione neurale degli organi bersaglio.

L’attivazione dell’asse ipotalamo-ipofisi-surrene (HPA), invece, porta all’aumento dei glucocorticoidi in circolo (Ulrich-Lai et al., 2009).

L’esposizione allo stress porta all’attivazione dei neuroni simpatici pre-gangliari presenti nella spina dorsale: questi neuroni proiettano ai gangli pre o para-vertebrali, che, a loro volta, proiettano agli organi bersaglio, e alle cellule del midollo surrenale. L’attivazione del sistema nervoso simpatico prende il nome di risposta di attacco-fuga che porta ad un aumento dei livelli di adrenalina e noradrenalina circolanti, della frequenza cardiaca e della forza di contrazione, della vasocostrizione periferica e della mobilitazione delle energie. Rispetto al ramo parasimpatico, in condizioni di stress, i nuclei pre-gangliari craniosacrali attivano i nuclei post-gangliari localizzati vicini agli organi che, successivamente, innervano agendo in modalità opposta rispetto a quella del sistema simpatico (Gunnar et al., 2007; Ulrich-Lai et al., 2009).

Rispetto all'asse HPA, invece, rappresentato nella parte destra della figura, gli stressor attivano i neuroni del nucleo paraventricolare (PVN) dell'ipotalamo che secernono gli ormoni di rilascio della corticotropina (CHR) e della vasopressina (AVP) all'interno della circolazione sanguigna. Questi ormoni raggiungono l'ipofisi anteriore dove stimolano la produzione dell'ormone adrenocorticotropo (ACTH) che, a sua volta, stimola la sintesi e il rilascio degli ormoni glucocorticoidi, nello specifico il cortisolo. I glucocorticoidi in circolo promuovono la mobilizzazione delle energie immagazzinate e potenziano gli effetti simpatici, fra i quali la vasocostrizione periferica.

La corteccia surrenale è anche innervata direttamente dal SNS che facilita il rilascio di corticosteroidi: in questo modo, i due sistemi principali di risposta allo stress mettono in atto azioni complementari (Gunnar et al., 2007).

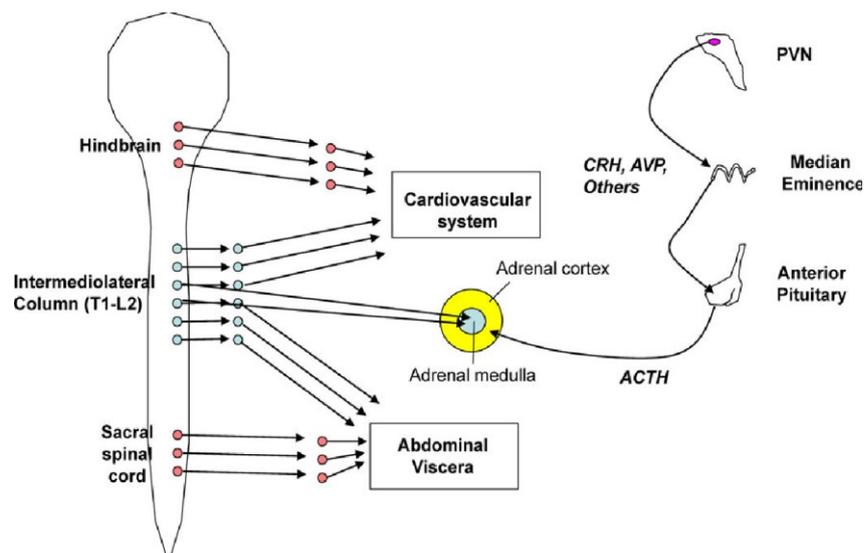


Figura 3. Diagramma rappresentante il sistema autonomo simpatico e l'asse HPA che si attivano in risposta allo stress (Ulrich-Lai et al., 2009).

2.2.2. Il processo di innesco della risposta di stress

Il tronco encefalico riceve gli input che segnalano le alterazioni omeostatiche: le risposte del sistema simpatico partono dagli archi riflessi che stimolano le aree del midollo e i neuroni simpatici pre-gangliari della spina dorsale mentre l'attivazione parallela ramo parasimpatico agisce sul tono vagale del cuore e dei polmoni e aiuta a controllare la durata della risposta autonoma attraverso

input provenienti dal nucleo del tratto solitario (NTS). In aggiunta, i sistemi del midollo e della spina dorsale informano i siti di integrazione autonoma di più alto livello che modulano la risposta autonoma allo stressor in accordo con le informazioni discendenti provenienti dall'ipotalamo (Ulrich-Lai et al., 2009).

I segnali di alterazione omeostatica che vengono rilevati dal tronco encefalico portano all'attivazione anche dell'asse HPA: nello specifico, le informazioni dal tronco encefalico vengono proiettate al nucleo paraventricolare dell'ipotalamo (PVN).

Il PVN rappresenta il principale centro di integrazione dei segnali di stress: sono presenti al suo interno diverse popolazioni di neuroni che proiettano ai target autonomici del tronco encefalico e della spina dorsale, come il nucleo motorio dorsale del vago e il NTS. I neuroni di proiezione sia simpatici che parasimpatici si intrecciano a livello del PVN fornendo input alle funzioni di entrambi i rami del SNA (Ulrich-Lai et al., 2009).

Tra gli input che il PVN riceve, alcuni sono eccitatori, come quelli provenienti dal nucleo del tratto solitario e dal nucleo del letto della stria terminalis (BTS), altri inibitori GABAergici: tra questi ultimi, alcuni provengono da neuroni dall'area circostante, che, a sua volta, riceve stimoli dalle strutture limbiche, permettendogli di tradurre le informazioni limbiche nella modulazione dell'asse HPA o nell'attivazione autonoma.

2.2.3. *Il circuito limbico della risposta di stress*

Gli stimoli sia psicogeni che sistemici sono elaborati dalle strutture limbiche, in particolare dall'amigdala e dalla corteccia prefrontale. Le informazioni associative vengono inviate dalle aree corticali e sottocorticali che sono coinvolte nell'elaborazione sensoriale a queste aree che, dopo averle elaborate, le inviano ai siti sottocorticali principali e attivano l'asse HPA (Ulrich-Lai et al., 2009).

L'amigdala è particolarmente complessa con diversi bersagli a valle che regolano le risposte autonome e neuroendocrine di stress. Il nucleo centrale ha un ruolo nel processo di regolazione autonoma ed è associato ai

comportamenti stress-relati: il suo ruolo è modalità-specifico ed è prevalentemente coinvolto nelle risposte autonome di stress piuttosto che in quelle dell'asse HPA. Le proiezioni provenienti dai nuclei mediali e basolaterali dell'amigdala, invece, regolano l'attivazione dell'asse HPA agendo in sinergia con i neuroni di proiezione del PVN (Ulrich-Lai et al., 2009).

La corteccia prefrontale è suddivisa in diverse aree che contribuiscono a vari aspetti dell'output di stress: la parte prelimbica inibisce le risposte dell'asse HPA di fronte agli stressor psicogeni e regola la durata della secrezione dei glucocorticoidi. Al contrario, la parte infralimbica attiva le risposte autonome e dell'asse HPA agli stressor psicogeni. In conclusione, le due parti della corteccia prefrontale hanno ruoli differenti nella modulazione della risposta di stress: la prima di inibizione e la seconda di attivazione (Ulrich-Lai et al., 2009).

Le strutture limbiche hanno anche delle connessioni dirette con i sistemi effettori primari dello stress: gli output che provengono dalle strutture eccitatorie dello stress, quali l'amigdala centrale e mediale e la corteccia infralimbica, si mischiano con quelli provenienti dalle regioni inibitorie dello stress, come la corteccia prelimbica, permettendo di integrare localmente le informazioni limbiche prima che vengano inviate agli effettori primari dello stress (Ulrich-Lai et al., 2009).

La maggior parte delle connessioni tra le strutture limbiche e il PVN sono regolate da gruppi di cellule ricche di GABA localizzati nel nucleo del letto della stria terminalis (BST) e nell'ipotalamo: in questo modo, il flusso eccitatorio proveniente dalla corteccia prelimbica si traduce nell'inibizione del PVN. Le informazioni provenienti dall'amigdala usano molte delle stesse strutture ma i neuroni nel nucleo centrale e mediale sono GABAergici per cui l'attivazione del PVN avviene attraverso la sua disinibizione.

Il BST è costituito da diverse aree che agiscono differenzialmente nell'integrazione dello stress: le regioni antero-ventrali sono importanti per l'azione eccitatoria sull'asse HPA mentre quelle postero-mesiali inibiscono

le risposte di stress dell'asse. Dal punto di vista autonomico, il BTS ha azioni prevalentemente depressive (Ulrich-Lai et al., 2009).

I legami ipotalamici tra i siti limbici e i neuroni di output presenti nell'asse HPA e nel SNA rappresentano un filtro per le risposte agli stressor in relazione allo stato fisiologico corrente del soggetto: il nucleo arcuato e l'ipotalamo preottico hanno un'azione inibitoria sul PVN e, quindi, riducono l'attività dell'asse HPA mentre i neuroni ipotalamici laterali sono attivati dagli stressor e modulano il tono autonomico e dell'asse HPA.

2.2.4. Il sistema di interruzione della risposta di stress

L'asse HPA è soggetto ad un processo di feedback inibitorio da parte del suo principale prodotto, ossia i glucocorticoidi. I glucocorticoidi hanno azioni genomiche e non-genomiche nel corpo: le prime compaiono a seguito del legame con i recettori dei glucocorticoidi (GR) e, in alcuni casi, con quelli mineralcorticoidi (MR) che modificano il processo di trascrizione del gene. I MR hanno un'elevata affinità con i glucocorticoidi endogeni e sono legati anche durante il normale ciclo circadiano di secrezione dei corticosteroidi mentre i GR hanno bassa affinità e si legano maggiormente quando i livelli di corticosteroidi sono molto elevati come durante le risposte di stress. I GR sono i principali responsabili dell'inibizione ritardata della risposta di stress da parte dei glucocorticoidi. Le azioni non-genomiche, invece, compaiono entro qualche minuto dal rilascio di glucocorticoidi: esse sono responsabili del processo di feedback inibitorio negativo veloce dell'asse HPA (Ulrich-Lai & Herman, 2009).

I GR sono presenti in misura ampia all'interno della corteccia prefrontale mentre i MR sono in quantità più ridotta. Essi regolano sia il tono basale dell'asse HPA che il processo di terminazione della risposta di stress: la presenza di un elevato numero di GR, infatti, porta a una riduzione del picco di ACTH e dei livelli di corticosterone che aumentano durante la risposta di stress, indicando che sono sufficienti a ridurre la reattività allo stress (Ulrich-Lai et al., 2009).

2.3. Le funzioni del sistema di risposta allo stress

In base alla descrizione dei circuiti di risposta allo stress, le funzioni principali di questo sistema sono tre: la prima consiste nel coordinare le risposte comportamentali e fisiologiche dell'organismo quando deve affrontare minacce o opportunità ambientali che hanno conseguenze su di esso e che richiedono un cambiamento del suo stato attuale. Questo aggiustamento dell'organismo di fronte alle sfide ambientali prende il nome di *allostasi* che è descritto come “il processo di raggiungimento della stabilità attraverso cambiamenti fisiologici e comportamentali” (Del Giudice et al., 2011) e si contrappone a quello di *omeostasi* che “promuove la stabilità fisiologica mantenendo lo stato dell'organismo ad un set point fisso” (Del Giudice et al., 2011). Il sistema di risposta dello stress mantiene l'*allostasi* coordinando i cambiamenti del corpo in risposta alle sfide ambientali sia nel breve che nel lungo periodo.

Il SAM del sistema nervoso simpatico è responsabile dell'attivazione della risposta di attacco-fuga (Del Giudice et al., 2011).

Il sistema nervoso parasimpatico, invece, agisce, in modo opposto a quello simpatico, sul tono vagale del cuore e dei polmoni attivando i comportamenti di *freezing* (Ulrich-Lai & Herman, 2009b); (Del Giudice et al., 2011).

Infine, l'asse HPA stimola il rilascio di cortisolo quando l'organismo deve fronteggiare uno stressor con la funzione di mobilitare le risorse fisiologiche e psicologiche e contro-bilanciare gli effetti fisiologici dell'attivazione del sistema simpatico. Si attiva in particolar modo di fronte alle sfide che richiedono una mobilitazione prolungata e sostenuta delle risorse metaboliche e psicologiche: fra queste situazioni, sono comprese, ad esempio, le minacce socio-valutative come il dover parlare in pubblico di fronte a dei giudici (Del Giudice et al., 2011).

La seconda funzione consiste nel codificare e filtrare le informazioni provenienti dall'ambiente fisico e sociale attraverso le strutture limbiche e quelle dell'organismo tramite il sistema endocrino. Ogni componente del sistema si occupa di codificare diversi tipi di informazioni: il sistema parasimpatico mette in atto risposte non specifiche e fornisce poche informazioni relative all'ambiente esterno, il sistema simpatico è più specifico rispetto agli stimoli che richiedono una risposta di attacco-fuga e l'asse HPA si attiva nelle situazioni più

imprevedibili e incontrollabili (Del Giudice et al., 2011). Infine, i profili dell'attività di base del sistema dipendono dalle differenze individuali: le differenze nel funzionamento autonomico e dell'asse HPA sono regolate dalle differenze nelle modalità di crescita, di maturazione, nell'apprendimento e nello stile di attaccamento (Del Giudice et al., 2011).

3. La relazione tra il riflesso di startle e lo stress

Il riflesso di startle e lo stress sono due costrutti che, in letteratura, sono stati ampiamente approfonditi sotto diversi punti vista.

Nonostante il riflesso di startle sia definito come una misura di reattività difensiva dell'organismo, tuttavia, gli studi, fino ad ora condotti in relazione a come questo viene modulato dallo stress, sono in numero ridotto e si sono occupati principalmente di analizzare lo stress di tipo fisico.

3.1. Modulazione del riflesso di startle in seguito a *stressor* fisici

Gli studi che trattano la modulazione del riflesso di startle correlata allo stress fisico hanno utilizzato, nella maggioranza dei casi, il paradigma del Cold Pressor Test (CPT).

3.1.1. Il Cold Pressor Test e il riflesso di startle

Il Cold pressor test è un paradigma sperimentale, introdotto da Hines e Brown nel 1932, che prevede che il soggetto, messo in posizione supina, immerga la mano fino al polso all'interno di un contenitore con acqua fredda (intorno ai 4° C) per qualche minuto (Hines, 1940). L'immersione della mano all'interno dell'acqua ghiacciata porta all'attivazione del sistema nervoso autonomo simpatico, rappresentata dall'aumento della risposta di conduttanza cutanea e della pressione sanguigna (Schwabe et al., 2008). Si attiva, dunque, un meccanismo vasocostrittore iper-reattivo caratterizzato da un aumento del livello basale della pressione di più di 20 mm/Hg per quella sistolica e di più di 15 mm/Hg per quella diastolica (Hines, 1940).

Rispetto all'asse HPA, invece, il CPT ha un effetto più moderato sulla sua attivazione: come illustrato nel paragrafo precedente, l'attivazione dell'asse, indicata dall'aumento dei livelli di cortisolo in circolo, è maggiormente

stimolata durante lo svolgimento di compiti, quali il Trier Social Stress Test, che contengono elementi socio-valutativi e che richiedono ai partecipanti di eseguire un discorso e un compito di matematica di fronte ad una telecamera e ad un gruppo di persone che ascoltano (Schwabe et al., 2008).

In studi successivi, per dimostrare se la responsività del cortisolo e, quindi, l'attivazione dell'asse HPA durante lo svolgimento del CPT può aumentare, sono state aggiunte al paradigma delle componenti socio-valutative: i soggetti venivano videoregistrati e osservati durante lo svolgimento del compito (Schwabe et al., 2008). I risultati che si sono osservati confermano l'ipotesi che gli autori avevano formulato: i livelli di cortisolo rilasciato sono maggiori durante lo svolgimento del CPT valutato socialmente rispetto alla forma classica dell'esperimento.

Uno studio condotto da Deuter, Kuhel, Blumenthal, Schulz, Oitzl e Schachinger (2012) si è occupato di descrivere gli effetti dello stress fisico sia sulla componente autonoma che quella motoria della risposta di startle, attraverso l'utilizzo del CPT (Deuter et al., 2012). L'esperimento era suddiviso in tre fasi (pre-intervento, intervento e post-intervento) di tre minuti ciascuna, durante le quali venivano presentati degli stimoli elicитanti il riflesso di startle.

Quello che emerge dai risultati è un pattern unico di modulazione delle componenti dello startle: si osserva una dissociazione nella risposta delle due componenti dello startle. Fra le risposte autonome evocate dallo startle, la frequenza cardiaca e la conduttanza cutanea sono molto elevate durante lo svolgimento del CPT. Durante la fase di recupero, inoltre, le risposte della frequenza cardiaca diminuiscono, indicando la presenza di un meccanismo contro-regolatore: la frequenza cardiaca diminuisce a seguito di un aumento del flusso vagale che è mediato da una maggiore sensibilità dei barocettori determinata dall'incremento della pressione sanguigna (Deuter et al., 2012). Rispetto alle componenti motorie del riflesso di startle, invece, non si osservano delle differenze nell'attività del muscolo orbicularis oculi durante la fase di intervento: questo trova spiegazione nei processi attentivi che controbilanciano la modulazione affettiva. Durante la CPT, infatti, le risorse

attentive sono maggiormente rivolte verso lo stressor e, dunque, verso gli input termocettivi e nocicettivi diminuendo la quantità di risorse disponibili per l'elaborazione uditiva. I fattori attentivi ed emozionali interagiscono e lavorano in direzioni opposte: se sono di uguale dimensione e direzione opposta, non si osserva alcun effetto come nel caso di questo esperimento. Durante il recupero, infine, si osserva una diminuzione delle risposte di eye blink (Deuter et al., 2012).

Questo pattern di risposta distinto tra le due componenti del riflesso di startle è funzionale perché permette all'individuo di adattarsi alle fonti di pericolo aumentando gli effetti del SNA e diminuendo i blink dell'occhio in modo tale da non compromettere la continuità dell'input visivo.

3.2. Modulazione del riflesso di startle a seguito di *stressor* psicologici

Riguardo alla relazione tra lo stress sociale e il riflesso di startle, gli studi, ad oggi condotti, sono in numero ridotto.

Uno tra questi è quello condotto da Cornwell, Johnson, Berardi e Grillon (2006) relativo all'anticipazione dell'esecuzione di un discorso in pubblico, attraverso l'ausilio della realtà virtuale che simula un palco con un pubblico di circa trenta persone osservanti il soggetto svolgere il compito (Cornwell et al., 2006).

Il paradigma era suddiviso in quattro fasi: baseline, anticipazione, esecuzione del compito (svolgimento di un discorso o compito di conteggio) e recupero, durante le quali venivano presentati degli stimoli probe elicитanti il riflesso di startle.

Gli aspetti che emergono dai risultati di questo esperimento sono essenzialmente due: innanzitutto, la reattività allo startle è linearmente correlata alla predisposizione a sperimentare ansia in contesti socio-valutativi ma non è associata all'ansia di tratto generale. Lo startle, infatti, aumenta in maniera molto ampia durante la fase di anticipazione sia del compito sperimentale che di quello di controllo all'interno della realtà virtuale (Cornwell et al., 2006).

In secondo luogo, la frequenza cardiaca e la risposta di conduttanza cutanea sono più elevate nella fase di anticipazione del discorso rispetto a quella del compito di conteggio ma non sono correlate alle misure di ansia sociale.

La bassa correlazione tra la reattività dello startle e l'ansia di tratto generale è spiegata dal fatto che elevati tratti subclinici di ansia sociale sono associati a

un'elevata reattività dello startle durante la minaccia socio-valutativa imminente. I livelli di ansia soggettiva durante l'anticipazione del discorso sono correlati con tutte le misure di tratto ma non correlano con lo startle, suggerendo che l'ansia di stato non media la relazione tra l'ansia sociale di tratto e la reattività allo startle (Cornwell et al., 2006).

4. Scopi della ricerca

La ricerca che è stata condotta ha come scopo principale quello di indagare come la reattività del riflesso di startle può essere modulata dallo stress di tipo sociale durante lo svolgimento di un compito ecologico.

L'ipotesi principale formulata è che, durante le fasi del compito maggiormente minacciose, vale a dire quella dell'anticipazione e dello svolgimento del compito, l'ampiezza del riflesso di startle aumenti. Questo fenomeno indicherebbe, dunque, un coinvolgimento del circuito sottocorticale che controlla il riflesso, che comprende l'amigdala e si attiva in risposta a minacce reali o potenziali.

Per testare l'ipotesi, la componente del riflesso di startle che è stata analizzata è la contrazione del muscolo *orbicularis oculi*, misurata attraverso il posizionamento di due elettrodi sotto l'occhio in corrispondenza del muscolo, durante lo svolgimento del Trier Social Stress Test (TSST), un compito stressante ecologico, o di un compito di controllo. Entrambi i compiti sono composti da quattro fasi (Baseline, Anticipazione, Speech e Recupero) e differiscono esclusivamente per il loro potenziale stressante, ossia la presenza o meno di elementi che generano stress, in modo tale da poter attribuire qualunque effetto osservato all'azione di quest'ultimo.

Infine, la reattività del riflesso di startle è stata studiata tramite la presentazione binaurale randomizzata, durante tutte le quattro fasi dell'esperimento, di dieci stimoli elicitori il riflesso, costituiti da rumori bianchi della durata di 50 ms a 90 dB di intensità.

CAPITOLO 2

1. Metodo

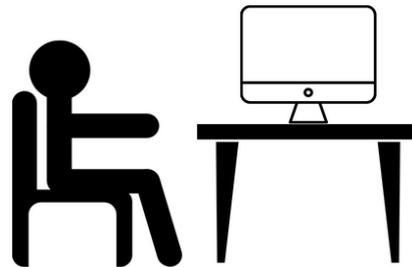
1.1. Partecipanti

Sono stati reclutati per lo studio 40 soggetti (24 femmine), madrelingua italiana, provenienti da diverse facoltà universitarie e senza problemi neurologici o disturbi psichiatrici.

1.2. Protocollo sperimentale

I partecipanti sono stati suddivisi, in maniera randomizzata, in gruppo sperimentale e di controllo.

Dove aver firmato il consenso informato, il soggetto veniva fatto sedere su una sedia posta in una stanza insonorizzata di fronte ad un computer e svolgeva il compito sperimentale o placebo in base al gruppo al quale era stato assegnato.



Il compito sperimentale che è stato utilizzato è il Trier Social Stress (TTS), uno dei paradigmi che viene maggiormente utilizzato per studiare lo stress psicosociale in laboratorio e che elicitava una risposta fisiologica robusta e attendibile (Kirschbaum et al., 1993).

L'esperimento era composto da quattro fasi da cinque minuti ciascuna: Baseline, Anticipazione, Speech e Recupero. Durante la prima, il soggetto, senza la presenza dello sperimentatore, doveva rimanere seduto e rilassarsi; nella seconda, veniva chiesto al partecipante di prepararsi mentalmente un discorso di cinque minuti immaginando di dover eseguire un colloquio per il proprio lavoro ideale specificando che, nella fase successiva, avrebbe dovuto esporlo di fronte ad una videocamera e che il video sarebbe stato analizzato da un gruppo di esperti di public speaking. Successivamente, nella terza fase, il soggetto eseguiva

effettivamente il compito con la porta della stanza aperta e di fronte al gruppo di sperimentatori che ascoltavano. Infine, nell'ultima fase, veniva chiesto nuovamente al soggetto di rilassarsi.

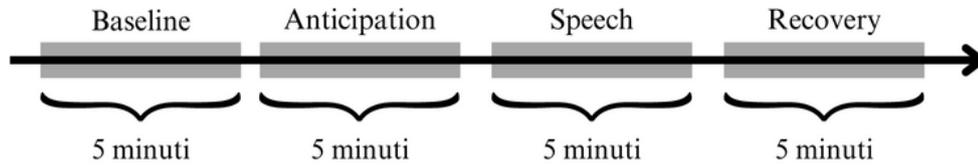


Figura 4. Immagine rappresentante il protocollo sperimentale

Il compito placebo utilizzato era identico a quello sperimentale: era costituito dalle stesse quattro fasi di cinque minuti ciascuna e differiva solo per il potenziale stressante, ossia per l'assenza di tutti gli elementi elicитanti lo stato di stress. Nella fase di anticipazione, infatti, i partecipanti dovevano preparare un discorso di cinque minuti riguardante un argomento a piacere che, nella fase di Speech, avrebbero dovuto esporre liberamente con la porta chiusa in assenza degli sperimentatori e senza videocamera.

Infine, prima di ogni fase sperimentale, veniva fatto compilare ai soggetti di entrambi i gruppi lo STAI di stato, un questionario che permette di valutare il livello di ansia di stato del soggetto tra una fase e l'altra dell'esperimento.

1.3. Startle probe

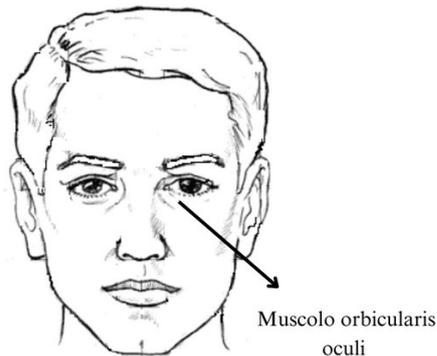
Per studiare la reattività del riflesso di startle, ai partecipanti di entrambi i gruppi venivano fatte mettere delle cuffie nelle quali venivano presentati binauralmente degli stimoli elicитanti il riflesso.



I probe erano dieci per ogni fase e consistevano in rumori bianchi della durata 50 ms ad un'intensità di 90 dB che venivano presentati in maniera randomizzata.

1.4. Registrazione segnali fisiologici

La contrazione del muscolo *orbicularis oculi* è stata misurata attraverso il posizionamento di due elettrodi, ossia quello di riferimento (REF) e quello attivo, sotto l'occhio in corrispondenza del muscolo dopo aver eseguito la dermoabrasione con l'apposita pasta ed aver inserito al loro interno il gel isototonico per ridurre l'impedenza e migliorare la trasmissione del segnale.



1.5. Questionario self-report

Il livello di ansia percepito da ogni partecipante è stato misurato attraverso la somministrazione, tra una fase e l'altra dell'esperimento, e la compilazione del questionario STAI di stato, formulato da Spielberger nel 1983 e rielaborato nel 1988. Esso è costituito da venti quesiti ai quali ogni partecipante doveva rispondere indicando un numero su una scala da 1 ("Per nulla") a 4 ("Moltissimo").

1.6. Preprocessing del segnale elettromiografico

Il segnale elettromiografico grezzo del muscolo *orbiculari oculi* è stato registrato con un amplificatore BrainAmp ad una frequenza di campionamento di 2000 Hz.

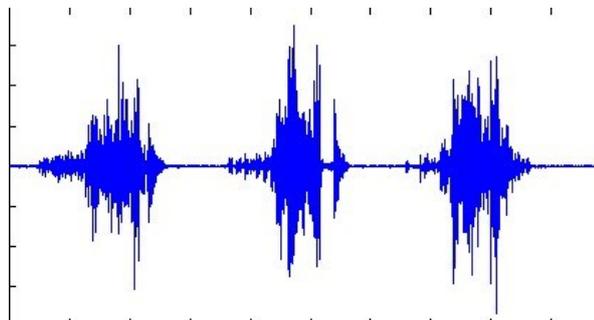


Figura 5. Immagine rappresentante il segnale EMG grezzo

Il segnale grezzo è stato, successivamente, preprocessato tramite diverse procedure: innanzitutto, sono stati applicati dei filtri passa-banda con una frequenza di taglio tra 21 e 340 Hz. Secondariamente, è stato eseguito il processo di rettificazione completa dell'onda tramite il quale tutti gli spikes negativi del segnale sono stati resi positivi.

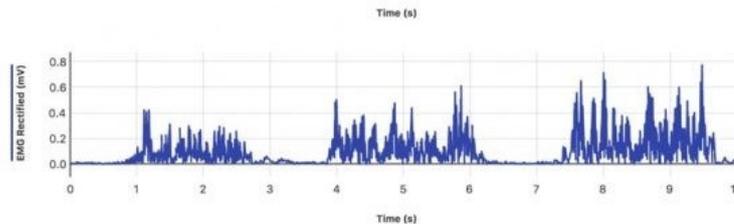


Figura 6. Immagine rappresentante il segnale EMG rettificato

Il segnale è stato sottoposto a *smoothing* tramite l'applicazione di un filtro a media mobile che calcola la media ogni 50 ms.

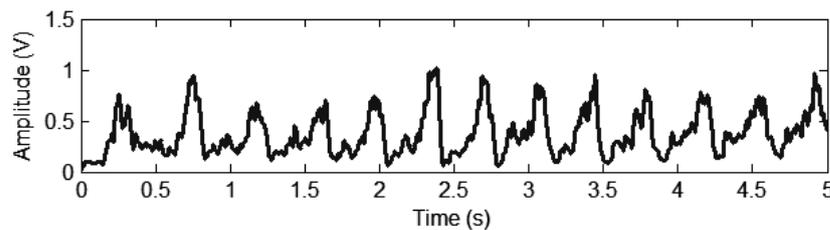


Figura 7. Immagine rappresentante il segnale sottoposto al processo di smoothing

Infine, è stato segmentato e suddiviso in epoche per un intervallo che va da 50 ms prima dell'inizio dello startle probe e 500 ms dopo l'inizio dello stimolo ed è stata eseguita la baseline correction che consiste nel sottrarre la baseline al segnale in modo tale da analizzare solo l'attività evocata dalla presentazione dello stimolo.

Ogni epoca è stata ispezionata visivamente per individuare gli artefatti rari e i partecipanti *non-responder*, ossia coloro che non hanno mostrato alcun tipo di risposta di startle nella maggior parte dei trials.

Infine, ogni epoca pulita è stata analizzata per individuare la massima ampiezza all'interno dell'intervallo tra 50 e 200 ms: una volta individuate tutte, sono state sottoposte al processo di normalizzazione intra-soggetto e trasformate in punti T in maniera tale da evitare i confound dovuti alle differenze individuali.

1.7. Analisi statistica dei dati elettromiografici

I dati sono stati analizzati statisticamente tramite un modello lineare ad effetti misti, che ha considerato, come variabile dipendente, l'ampiezza del picco del segnale, e come variabili indipendenti la fase dell'esperimento (Baseline, Anticipation, Speech e Recovery), il gruppo di soggetti (Stress e Placebo) e l'interazione tra i due. Inoltre, è stata inclusa nel modello un'intercetta random per modellare le misure ripetute sui diversi partecipanti.

La significatività di questi predittori è stata valutata attraverso l'utilizzo dell'ANOVA e, successivamente, gli effetti significativi sono stati esplorati tramite il metodo del confronto a coppie con la correzione FDR per gestire il problema dei confronti multipli.

1.8. Analisi statistica dei dati self-report

I dati raccolti attraverso i questionari STAI di stato sono stati analizzati seguendo lo stesso approccio descritto ed utilizzato per elaborare quelli relativi all'ampiezza del riflesso di startle.

CAPITOLO 3

1. Risultati analisi dei dati self-report

L'analisi fattoriale dei dati self-report raccolti attraverso i questionari, condotta tramite il modello ANOVA, ha riportato un effetto statisticamente significativo della fase, $F(3, 87)=12.3$, $p<0.001$, e dell'interazione tra i due fattori predittivi, fase e gruppo, $F(3, 87)=5.16$, $p=0.002$, per cui il livello di ansia percepito è maggiore nella fase di Speech rispetto a quella di Anticipazione nel gruppo sperimentale e opposto nel gruppo placebo. Non si osserva, invece, alcun effetto significativo rispetto al gruppo, $F(1, 29)=2.69$, $p=0.111$.

Questi risultati confermano la presenza di un effetto della manipolazione sperimentale riportando come il compito placebo induca un livello di stress inferiore rispetto al compito stressante.

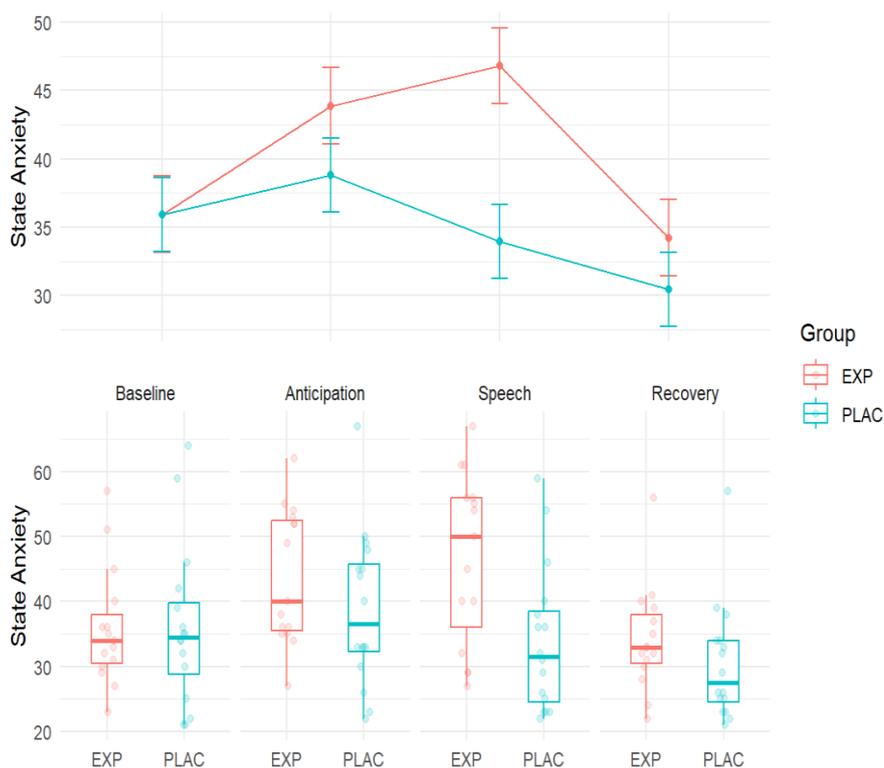


Figura 8. Diagramma rappresentante l'andamento dei livelli di stress auto riportati nei questionari dai soggetti del gruppo sperimentale (in rosso) e del gruppo placebo (in blu)

2. Risultati analisi dei dati elettromiografici

L'analisi fattoriale dei dati del segnale elettromiografico, che è stata sempre condotta tramite il modello ANOVA, ha riportato un effetto principale della fase, $F(3, 1093)=56.7, p<0.001$, indicando un aumento significativo dell'ampiezza media del picco del riflesso di startle durante la fase di Anticipazione rispetto alle altre fasi del compito. L'effetto principale del gruppo, invece, non è significativo, $F(1, 1093)=0.016, p=0.898$. Tuttavia, l'interazione tra i due fattori predittivi, fase e gruppo, è significativa, $F(3, 1093)= 4.75, p=0.002$, sottolineando che l'ampiezza media del picco del riflesso di startle è maggiore durante la fase di Anticipazione del compito stressante rispetto alla stessa fase del compito di controllo.

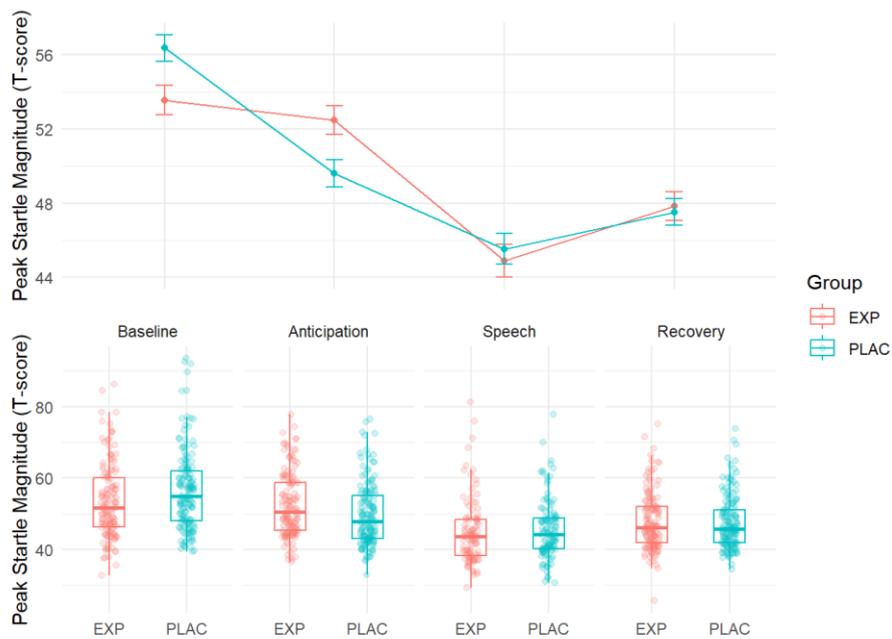


Figura 9. Diagramma rappresentante l'andamento in punti T dell'ampiezza del picco del riflesso di startle del gruppo sperimentale (in rosso) e del gruppo placebo (in blu)



Figura 10. Diagramma rappresentante l'ampiezza media del picco del riflesso di startle del gruppo sperimentale (in rosso) e del gruppo placebo (in blu)

In aggiunta, è stato osservato che, durante lo svolgimento del compito stressante, il riflesso di startle non va incontro ad un fenomeno di abitudine fisiologica come, invece, avviene durante lo svolgimento di quello placebo.

CAPITOLO 4

1. Discussione

Lo scopo di questo studio era quello di indagare come l'ampiezza del riflesso di startle viene modulata dallo stress di tipo sociale indotto dallo svolgimento di un compito ecologico quale il Trier Social Stress Test. Nello specifico, l'ipotesi iniziale formulata era che l'ampiezza del riflesso fosse maggiore nelle fasi più stressanti, vale a dire quelle di Anticipazione e di Speech.

I risultati ottenuti a seguito dell'analisi dei dati elettromiografici riportano due aspetti rilevanti che supportano l'ipotesi elaborata: per prima cosa, emerge che l'ampiezza del riflesso di startle, sia nel gruppo placebo che nel gruppo sperimentale, è maggiore nella fase di Anticipazione, ossia nel periodo immediatamente precedente allo svolgimento del discorso stressante o di quello scelto dal partecipante, rispetto a quella di Speech, ossia quella durante la quale il soggetto lo pronuncia effettivamente. In secondo luogo, si osserva che l'ampiezza media del picco del riflesso di startle è maggiore nella fase di Anticipazione del compito stressante rispetto alla stessa fase del compito placebo.

Questi dati trovano una spiegazione se vengono letti nell'ottica di quel filone di studi che vari autori hanno condotto nel tempo, sia sui ratti che sull'essere umano, relativi al fear-potentiated startle: la maggiore ampiezza del riflesso di startle, osservata nel gruppo sperimentale rispetto a quello placebo, è in linea con i risultati ottenuti precedentemente che evidenziavano come essa fosse maggiore quando il probe che elicitava il riflesso viene presentato insieme con lo stimolo condizionato ritenuto minaccioso rispetto a quando viene presentato da solo (Lang et al., 1990; Davis et al., 1993; Grillon & Baas, 2003).

La differenza di ampiezza media del riflesso che si osserva nelle due fasi minacciose dell'esperimento, quelle di Anticipazione e di Speech, invece, supporta l'assunto che sostiene la presenza di una specificità temporale del fear-potentiated startle secondo il quale esso è maggiore in ampiezza nella fase immediatamente precedente al compito rispetto alla fase in cui quest'ultimo viene effettivamente svolto (Lang et al., 1990; Davis et al., 1993; Grillon & Baas, 2003).

È possibile fornire due differenti spiegazioni a questo risultato, la prima rimanda alla modalità di allocazione delle risorse attentive e la seconda fa riferimento alla modulazione emotiva.

Da una parte, riprendendo il filone di studi condotti da Anthony e Graham (1985) rispetto all'attenzione cross-modale che avevano concluso che il soggetto, quando è impegnato nello svolgimento di un compito principale, mostra una risposta ridotta allo stimolo uditivo elicitante il riflesso di startle, è possibile che i partecipanti, durante la fase di Speech, concentrino le loro risorse attentive, per natura limitate, sullo svolgimento del compito primario, ossia sull'esposizione a voce alta del discorso che si sono preparati mentalmente nella fase precedente. In questo modo, la quantità di risorse attentive disponibili per elaborare e reagire ai rumori improvvisi e forti che vengono trasmessi nelle cuffie è ridotta: questo spiegherebbe perché l'ampiezza del riflesso di startle è maggiormente ridotta nella fase di Speech rispetto a quella di Anticipazione, durante la quale i soggetti, invece, hanno a disposizione maggiori risorse attentive per elaborare e reagire allo stimolo uditivo.

Dall'altro lato, la sola spiegazione attentiva non è sufficiente per descrivere il fenomeno osservato: è necessario prendere in considerazione anche la componente della modulazione affettiva del riflesso di startle, con particolare riferimento agli studi condotti da Lang et al. (1990). La letteratura, infatti, riporta l'esistenza di una relazione lineare tra l'ampiezza del riflesso di startle, considerato come una risposta difensiva che l'organismo mette in atto di fronte ad un evento, e la valenza dello stimolo: la prima è maggiore quando la valenza dello stimolo che viene presentato è negativa rispetto a quando è positiva. In quest'ottica, è possibile affermare che la differente ampiezza del riflesso osservata nella fase di Anticipazione nei due gruppi possa essere determinata dalla differenza di potenziale stressante che contraddistingue i due compiti proposti ai due gruppi. I soggetti facenti parte del gruppo sperimentale, che dovevano sostenere un discorso tipo colloquio di lavoro di fronte alla telecamera, percepivano come maggiormente stressante il compito e, quindi, mostravano una risposta del riflesso di startle più ampia rispetto ai soggetti che dovevano esporre un discorso su un argomento a piacere e in assenza di telecamera.

Considerando il fenomeno da un punto di vista neurale, i risultati ottenuti confermano l'ipotesi di un coinvolgimento del circuito sottocorticale, in particolare dell'amigdala, durante lo svolgimento del compito sperimentale stressante. Questo dato è supportato dai diversi studi che hanno descritto come l'amigdala abbia un ruolo centrale da una parte nel processo di elaborazione del fear-potentiated startle e dall'altra nel circuito relativo al fenomeno dello stress. I diversi studi descritti da Davis et al. (1993), infatti, hanno dimostrato come essa sia fondamentale, in relazione al fear-potentiated startle, nel processo di elaborazione degli stimoli che sono percepiti come minacciosi prima che questi convergano nel nucleo reticolare del ponte caudale, struttura centrale per la mediazione del riflesso di startle uditivo. La rassegna di Ulrich-Lai et al. (2009), invece, sottolinea come l'amigdala rappresenti il centro principale di regolazione e gestione della risposta autonoma di stress: essa viene stimolata dalle sinapsi che provengono dal tronco encefalico, dopo che quest'ultimo ha ricevuto input esterni che segnalano un'alterazione dell'allostasi, e, a sua volta, attiva le strutture autonome responsabili della coordinazione della risposta di stress necessaria per ripristinare un corretto livello di stabilità di fronte a cambiamenti fisiologici e comportamentali, come accade quando il soggetto deve affrontare situazioni stressanti e minacciose.

Inoltre, l'analisi dei dati self-report conclude che il compito placebo induce un livello di stress minore rispetto a quello stressante: questi risultati sono fondamentali perché permettono di sostenere l'efficacia della manipolazione sperimentale e, dunque, di confermare l'ipotesi formulata all'inizio dello studio.

In conclusione, i risultati ottenuti da questo studio pilota sono di particolare rilevanza perché contribuiscono ad aumentare le evidenze a sostegno dell'esistenza di una relazione tra il riflesso di startle e lo stress di tipo sociale seguendo la direzione già intrapresa da Cornwell et al. (2006) con il suo studio relativo all'anticipazione del discorso all'interno della realtà virtuale nel quale era emerso che l'ampiezza del riflesso di startle aumentava maggiormente nella fase di anticipazione rispetto a quella di esecuzione del compito, sia questo placebo o sperimentale, e che era maggiore nella fase precedente allo svolgimento del compito stressante rispetto a quello placebo, di conteggio.

2. Limiti

Uno dei limiti che si può osservare in questo studio riguarda la possibilità di equilibrare il numero di soggetti di sesso maschile e femminile all'interno di ciascuno dei due gruppi. Per questo motivo, non è stato possibile analizzare se esistono delle differenze determinate dal genere dei partecipanti nell'ampiezza del riflesso di startle sia intra-gruppo, ossia all'interno dello stesso gruppo tra le diverse fasi dell'esperimento, sia inter-gruppo, vale a dire nelle stesse fasi nei due diversi gruppi. Inoltre, all'interno dell'analisi, non è stato possibile approfondire l'aspetto delle differenze individuali tra i diversi soggetti nelle modalità di risposta ad eventi stressanti e minacciosi attraverso il confronto delle ampiezze del riflesso di startle di ciascun partecipante all'interno del gruppo sperimentale.

3. Prospettive future e possibili applicazioni alla psicopatologia

I risultati ottenuti in questo studio pilota rappresentano un punto di partenza per condurre ulteriori ricerche in futuro.

Innanzitutto, una prima possibile applicazione di questo studio è quella di condurre lo stesso esperimento prendendo, come partecipanti, soggetti affetti da disturbi psichiatrici quali disturbi d'ansia, depressione maggiore, psicopatia, disturbo da personalità borderline e schizofrenia. Come descritto nei diversi studi, i pazienti psichiatrici presentano delle anomalie nel pattern di reattività del riflesso di startle che sono riconducibili alle caratteristiche specifiche di personalità tipiche delle persone affette da questi disturbi: i pazienti psicotici, ad esempio, mostrano una ipo-reattività del riflesso mentre, al contrario, i soggetti affetti da disturbi d'ansia, riportano un suo potenziamento (Grillon et al., 2003). Sottoporre queste categorie di pazienti ad un esperimento simile permetterebbe di analizzare, per prima cosa, come le risposte del riflesso di startle, di per sé già atipiche, vengono modulate quando essi si trovano in condizioni percepite come stressanti. Secondariamente, i risultati ottenuti potrebbero essere messi a confronto con quelli ricavati dall'analisi dei dati della popolazione normotipica per osservare le differenze presenti nei due gruppi rispetto all'andamento del riflesso di startle quando si trovano a far fronte a situazioni caratterizzate da un elevato potenziale stressante.

I dati ottenuti tramite questi studi, inoltre, rappresenterebbero un punto di partenza per lo sviluppo di interventi in ambito psicoterapeutico volti a fornire a queste popolazione di pazienti degli strumenti efficaci per la gestione delle situazioni connotate da livelli di stress più elevati.

Un'altra possibile applicazione, che si sta già sviluppando, è quella di svolgere lo stesso esperimento aggiungendo la presenza di un'altra persona, che può essere familiare o meno, nella stessa stanza all'interno della quale il partecipante sta svolgendo il compito e che lo osserva. L'applicazione di questo studio, in questo contesto, avrebbe diversi scopi: innanzitutto, permette di analizzare come la presenza di un'altra persona influisce sulla capacità di reazione del soggetto mentre è occupato a svolgere un compito stressante. In secondo luogo, è possibile confrontare come gli effetti derivanti dalla presenza di un soggetto osservante variano in relazione alla familiarità o meno che le due persone condividono. Infine, permette di valutare se la persona che osserva il partecipante durante il compito viene contagiata emotivamente, mostrando anch'essa un livello di attivazione di fronte al compito stressante, in che misura ciò avviene e se questa reattività è modulata dalla familiarità che ha con il soggetto che svolge il compito.

BIBLIOGRAFIA

- Anthony, B. J., & Graham, F. K. (1985). Blink reflex modification by selective attention: Evidence for the modulation of 'automatic' processing. *Biological Psychology*, *21*(1), 43–59. [https://doi.org/10.1016/0301-0511\(85\)90052-3](https://doi.org/10.1016/0301-0511(85)90052-3)
- Cornwell, B. R., Johnson, L., Berardi, L., & Grillon, C. (2006). Anticipation of Public Speaking in Virtual Reality Reveals a Relationship Between Trait Social Anxiety and Startle Reactivity. *Biological Psychiatry*, *59*(7), 664–666. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2005.09.015>
- Davis, M., Falls, W. A., Campeau, S., & Kim, M. (1993). Fear-potentiated startle: A neural and pharmacological analysis. *Behavioural Brain Research*, *58*(1–2), 175–198. [https://doi.org/10.1016/0166-4328\(93\)90102-V](https://doi.org/10.1016/0166-4328(93)90102-V)
- Del Giudice, M., Ellis, B. J., & Shirlcliff, E. A. (2011). The Adaptive Calibration Model of stress responsivity. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, *35*(7), 1562–1592. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2010.11.007>
- Deuter, C. E., Kuehl, L. K., Blumenthal, T. D., Schulz, A., Oitzl, M. S., & Schachinger, H. (2012). Effects of Cold Pressor Stress on the Human Startle Response. *PLoS ONE*, *7*(11), e49866. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0049866>
- Grillon, C. (2002). Startle reactivity and anxiety disorders: Aversive conditioning, context, and neurobiology. *Biological Psychiatry*, *52*(10), 958–975. [https://doi.org/10.1016/S0006-3223\(02\)01665-7](https://doi.org/10.1016/S0006-3223(02)01665-7)

- 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*(9), 1557–1579. [https://doi.org/10.1016/S1388-2457\(03\)00202-5](https://doi.org/10.1016/S1388-2457(03)00202-5)
- Gunnar, M., & Quevedo, K. (2007). The Neurobiology of Stress and Development. *Annual Review of Psychology*, *58*(1), 145–173. <https://doi.org/10.1146/annurev.psych.58.110405.085605>
- Hines, E. A. (1940). The significance of vascular hyperreaction as measured by the cold-pressor test. *American Heart Journal*, *19*(4), 408–416. [https://doi.org/10.1016/S0002-8703\(40\)90053-9](https://doi.org/10.1016/S0002-8703(40)90053-9)
- Kirschbaum, C., Pirke, K.-M., & Hellhammer, D. H. (1993). The ‘Trier Social Stress Test’ – A Tool for Investigating Psychobiological Stress Responses in a Laboratory Setting. *Neuropsychobiology*, *28*(1–2), 76–81. <https://doi.org/10.1159/000119004>
- Lang, P. J., Bradley, M. M., & Cuthbert, B. N. (1990). Emotion, attention, and the startle reflex. *Psychological Review*, *97*(3), 377–395. <https://doi.org/10.1037/0033-295X.97.3.377>
- Schwabe, L., Haddad, L., & Schachinger, H. (2008). HPA axis activation by a socially evaluated cold-pressor test. *Psychoneuroendocrinology*, *33*(6), 890–895. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2008.03.001>
- Selye, H. (1936). A Syndrome produced by Diverse Nocuous Agents. *Nature*, *138*(3479), 32–32. <https://doi.org/10.1038/138032a0>
- Selye, H. (1950). Stress and the General Adaptation Syndrome. *BMJ*, *1*(4667), 1383–1392. <https://doi.org/10.1136/bmj.1.4667.1383>

Stress. (s.d.). In *Dictionary of Psychology*. APA. Recuperato 22 luglio 2023, da <https://dictionary.apa.org/stress>

Ulrich-Lai, Y. M., & Herman, J. P. (2009). Neural regulation of endocrine and autonomic stress responses. *Nature Reviews Neuroscience*, *10*(6), 397–409. <https://doi.org/10.1038/nrn2647>

Vrana, S. R., Spence, E. L., & Lang, P. J. (1988). The startle probe response: A new measure of emotion? *Journal of Abnormal Psychology*, *97*(4), 487–491. <https://doi.org/10.1037/0021-843X.97.4.487>