

# Lo studio funzionale della corteccia cerebrale mediante la topografia ottica nel neonato

ANDREA CLARICI<sup>1</sup>, STEFANO BEMBICH<sup>1</sup>, LAURA TRAVAN<sup>2</sup>, CHIARA ORETTI<sup>2</sup>, CRISTINA VECCHIET<sup>1</sup>, MICHELE BAVA<sup>2</sup>, PIERPAOLO BROVEDANI<sup>2</sup>, ELENA NERI<sup>2</sup>, STEFANO MASSACCESI<sup>1</sup>, TERESA FARRONI<sup>3</sup>, SERGIO DEMARINI<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze della Riproduzione e dello Sviluppo, Università di Trieste

<sup>2</sup>IRCCS "Burlo Garofolo", Trieste

<sup>3</sup>Dipartimento di Psicologia, Università di Padova

*La topografia ottica è una tecnica non invasiva di imaging funzionale del cervello, che consente di valutare le modificazioni dinamiche del flusso ematico e del metabolismo e le concentrazioni rispettivamente dell'emoglobina ossigenata, deossigenata e totale, con una buona risoluzione spaziale e temporale. Questo permette, quasi come una MRI, ma senza disturbare o addormentare il malato, di riconoscere danni anossico-ischemici e di studiare l'ontogenesi di alcune funzioni come il linguaggio.*

**D**a quando è noto che il neonato nasce con competenze molto elevate di rilevazione del mondo circostante e della propria condizione corporea, i medici e i ricercatori impegnati nello studio dello sviluppo cerebrale precoce nel neonato e nel bambino piccolo si scontrano da sempre con due ordini di problemi. Il primo è quello etico e riguarda la natura invasiva, sia fisica che psicologica, delle diverse metodiche adottate; il secondo riguarda le inferenze, che è sempre necessario fare nel bambino che non usa ancora il linguaggio verbale, riguardo ai fenomeni neuropsichici e alla correlazione tra i comportamenti osservabili (ad es. il sorriso del neonato) e lo stato psicofisico soggettivo e oggettivo corrispondente nel bambino più grande e nell'adulto (ad es. la gioia).

Per far fronte a queste problematiche, è stata di recente proposta la Topografia Ottica (TO) quale tecnica per la visualizzazione funzionale della corteccia cerebrale. Tale metodica è il frutto di un notevole lavoro di ricerca che, nell'ultimo ventennio<sup>1-4</sup>, è stato de-

## THE FUNCTIONAL STUDY OF NEONATAL CEREBRAL CORTEX BY MEANS OF OPTICAL TOPOGRAPHY

(Medico e Bambino 2010;29:41-46)

### Key words

Near Infra-Red Spectroscopy, Optical topography, Functional neuroimaging, Neonatal brain

### Summary

*Optical topography is a non-invasive functional brain imaging technique, which uses light in the near infra-red spectrum and allows to detect hemodynamic changes in the cerebral cortex. Specifically, it measures relative changes in oxygenated, de-oxygenated and total haemoglobin concentrations, reflecting variations in the cerebral blood flow and volume. This technique does not need sedation and it is safe: consequently, it appears particularly feasible to study cerebral neonatal development. Neonatal cerebral cortex activations associated both with simple sensory stimuli and with more complex cognitive or affective-relational have been detected. In neonatology, a promising research field is related to the detection of cerebral hemodynamic response observed in specific conditions (such as encephalopathies and perinatal asphyxia).*

dicato allo sviluppo di una metodologia innovativa e non invasiva per la valutazione dei cambiamenti delle risposte emodinamiche e dell'ossigenazione nel cervello, considerati validi indicatori dell'attivazione neuronale.

La TO consente di ottenere immagini bidimensionali che visualizzano i

cambiamenti nella concentrazione dell'emoglobina ossigenata (HbO<sub>2</sub>), dell'emoglobina deossigenata (Hb) e dell'emoglobina totale (HbTot) che avvengono in specifiche aree di corteccia cerebrale in un preciso lasso di tempo. Il cambiamento nella concentrazione dell'emoglobina ossigenata è

considerato come un indicatore del flusso ematico cerebrale e quindi dell'ossigenazione presente in una determinata area corticale; il cambiamento nella concentrazione di emoglobina deossigenata è considerato invece un indice dell'avvenuto metabolismo dell'ossigeno, mentre il cambiamento nella concentrazione dell'emoglobina totale viene considerato un rivelatore del volume ematico cerebrale<sup>1</sup>. Risulta quindi interessante poter studiare un determinato comportamento osservabile nel bambino e seguire i relativi pattern di attivazione corticale nel corso dello sviluppo, fino all'identificazione di quelli noti e definiti per l'adulto.

Tecnicamente, il metodo di cui si avvale la TO per l'ottenimento di immagini funzionali del cervello in vivo è quello della spettroscopia del vicino infrarosso (*Near Infra-Red Spectroscopy* o NIRS), sviluppata da Jobsis<sup>5</sup> verso la fine degli anni '70 con lo scopo di ottenere un monitoraggio del consumo di ossigeno nei tessuti viventi. La NIRS si basa sulla trasparenza del tessuto biologico alla luce del vicino infrarosso, cioè quella con lunghezza d'onda compresa tra 650 nm e 1000 nm. I fotoni di luce del vicino infrarosso possono attraversare i tessuti ed essere rilevati una volta riemersi dalla superficie somatica. Lo stesso fenomeno può essere comunemente osservato ponendo le proprie mani attorno a una lampadina, rilevandone la relativa trasparenza alla luce che le attraversa, conferendo loro un colore rosso.

Un altro elemento su cui si fonda questa tecnica è la capacità dell'emoglobina di assorbire parzialmente la luce infrarossa. L'emoglobina ossigenata (HbO<sub>2</sub>) e l'emoglobina deossigenata (Hb) hanno il loro picco di assorbimento a livelli differenti dello spettro del NIR (rispettivamente 830 nm e 690 nm). Dall'analisi dell'attenuazione del segnale di luce che riemerge dai tessuti esaminati, la cui propagazione avviene secondo un andamento detto a forma di "banana" (*Figura 1*), possono essere quindi dedotti i cambiamenti nella concentrazione dei due tipi di emoglobina associati al flusso ematico.

Un dispositivo per TO cerebrale si compone di una serie di fonti di luce

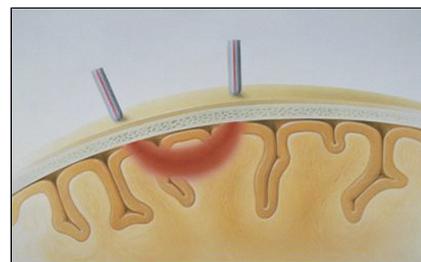
che utilizzano almeno due lunghezze d'onda del vicino infrarosso. Una serie di rivelatori rilevano il segnale dopo che è penetrato per pochi centimetri attraverso lo scalpo, la calotta cranica e la superficie corticale ed è stato riflesso dal tessuto "target" (l'emoglobina). L'insieme di trasmettitori e di detettori, definiti optodi, viene fissato su un dispositivo come un elmetto, un semi-elmetto o una cuffia, posto sul capo seguendo specifici riferimenti che ne permettono la collocazione sopra l'area cerebrale di interesse (*Figure 2 e 3*).

In genere, al crescere del numero di emettitori e corrispondenti rivelatori, aumenta anche l'ampiezza dell'area esaminata. Il segnale viene raccolto campionandolo con frequenze anche molto ravvicinate, e ciò conferisce alla TO un'ottima risoluzione temporale che può attualmente arrivare a 100 ms. Il segnale, di tipo analogico, viene inviato a un computer che lo converte in digitale e provvede alla sua elaborazione, fornendo un'immagine bidimensionale dinamica dei cambiamenti nella concentrazione di emoglobina nel corso della rilevazione. È inoltre fornito dallo strumento un formato numerico dello stesso tipo di dati, ad esempio in termini di millimolarità per millimetro di distanza percorsa dalla luce (mM\*mm), per eventuali analisi statistiche.

Una rappresentazione schematica del dispositivo viene presentata nella *Figura 4*.

La leggerezza degli optodi, quella del dispositivo su cui vengono fissati e il sistema del suo posizionamento sul capo, basato su morbidi elastici, cinghiette a "strap" o sull'adozione di cuffie adattabili, fanno della TO uno strumento che implica livelli minimi di costrizione. La tecnica non è invasiva, in quanto non richiede l'utilizzo di mezzi di contrasto o di costrizioni motorie, ed è considerata estremamente sicura, poiché la quantità di radiazione luminosa che raggiunge la corteccia cerebrale nel corso dell'esame è paragonabile all'1,2% di quella derivante dall'esposizione del capo al sole in una giornata serena estiva<sup>6</sup>.

L'utilizzo della TO senza sedazione,



**Figura 1.** Il percorso a "forma di banana" seguito dai fotoni di luce del vicino infrarosso (adattato da Hitachi).



**Figura 2.** Dispositivo per il posizionamento bi-temporale degli optodi: la fascetta rossa indica gli emettitori di luce nel vicino infrarosso, mentre quella blu i detettori.



**Figura 3.** Dispositivo per il posizionamento degli optodi sul capo del bambino con copertura di un'ampia superficie.

la non invasività, l'assenza di nocività, la bassissima rumorosità, la trasportabilità dell'apparecchiatura e la buona risoluzione temporale rendono questo strumento particolarmente adatto allo studio della fisiologia della corteccia cerebrale in neonati o bambini molto piccoli che, per ovvi motivi insiti nelle procedure, non si prestano a essere sottoposti alle altre tecniche di neuroimmagine funzionale quali la fMRN o la PET. Queste tecniche di visualizzazione infatti, per tutta una serie di ragioni etiche e metodologiche, non si sono rivelate adatte allo studio di neonati sani e svegli, cosa che fino a oggi

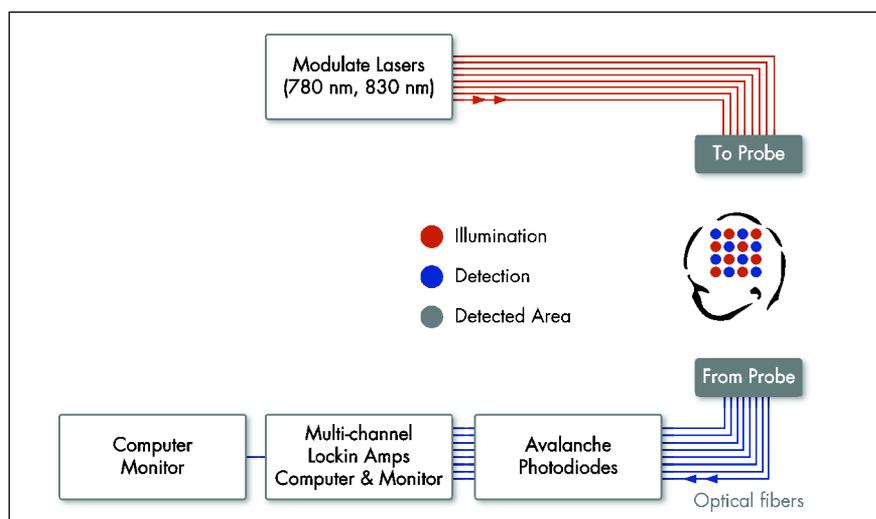


Figura 4. Schema a blocchi della topografia ottica mod. ETG 100 della Hitachi (fonte Hitachi).

ha ostacolato la ricerca sullo sviluppo cerebrale funzionale post-natale.

Peraltro, a fronte dell'ottima risoluzione temporale, la TO dovrebbe essere ulteriormente migliorata per quel che riguarda la risoluzione spaziale, che attualmente è di solo qualche centimetro e non può essere ancora paragonata alla precisione della Risonanza Magnetica funzionale (fRMN), la cui capacità discriminativa arriva fino a 1 mm. Va anche tenuto presente che la TO raggiunge profondità difficilmente superiori ai 3 cm, limitando in questo modo la visualizzazione funzionale dell'attività corticale alle regioni più superficiali.

#### LE APPLICAZIONI DELLA TOPOGRAFIA OTTICA NELLO STUDIO DELLO SVILUPPO NEUROPSICOLOGICO NEONATALE

Sebbene siano necessarie ulteriori ricerche perché la TO possa essere applicata alla pratica clinica quotidiana in neonatologia<sup>7</sup>, è da circa una ventina d'anni che essa viene impiegata per lo studio funzionale della corteccia cerebrale del neonato<sup>8</sup>, sia in condizioni di assenza che di presenza di sofferenza cerebrale. Il paradigma di ricerca classicamente impiegato con la TO consiste nel valutare le variazioni della risposta emodinamica associate alle particolari condizioni di stimolo cui viene

sottoposto il neonato. Inizialmente, per questi studi con bambini molto piccoli, i ricercatori hanno impiegato stimoli piuttosto semplici di tipo sensoriale (visivi, uditivi, olfattivi)<sup>9-11</sup> o motorio<sup>12</sup>, ma da qualche anno vengono impiegati anche compiti di carattere più complesso sul piano cognitivo, quali quelli di tipo percettivo, linguistico (ascolto del parlato materno) o attenzionale, anche in età molto precoce (*vedi oltre*). Allo stato attuale, i dati ottenuti dalla topografia ottica sulle variazioni di concentrazione dell'emoglobina ossigenata e totale vengono considerati più precisi e attendibili rispetto a quelli relativi all'emoglobina deossigenata<sup>13</sup>.

Nello studio dell'attivazione della corteccia motoria del neonato, in associazione a movimenti passivi del ginocchio, l'applicazione della TO ha evidenziato un aumento dell'ossi-emoglobina e una diminuzione della desossi-emoglobina controlateralmente all'arto stimolato<sup>12</sup>.

Per quanto riguarda la ricerca sul dolore, in neonati pretermine con un periodo gestazionale incluso tra le 28 e le 36 settimane e un'età compresa tra le 25 e le 40 ore di vita, è stata monitorata la fisiologia della corteccia cerebrale in associazione a un evento doloroso quale la puntura necessaria all'effettuazione del prelievo<sup>14</sup>. È stato osservato un aumento nella concentrazione dell'ossi-emoglobina nell'area somatosensoriale, quindi una sua attiva-

zione, soprattutto nei neonati di sesso maschile, in quelli con una più bassa età gestazionale e con più ore di vita. La puntura sulla mano destra attivava il solo emisfero sinistro, mentre quella sulla mano sinistra attivava entrambi gli emisferi. La maggiore attivazione delle aree somatosensoriali osservata nei neonati con più bassa età gestazionale è stata attribuita dagli Autori al processo di formazione della soglia di percezione del dolore, ancora in atto nei neonati pretermine<sup>15</sup>, mentre l'aumento dell'attivazione delle medesime aree nei bambini con più ore di vita è stato attribuito al processo di decadimento post-natale dell'inibizione fetale<sup>16</sup>. La latenza rilevata tra la puntura e l'attivazione corticale era paragonabile a quella evidenziata in soggetti adulti in altre ricerche.

Nello studio della corteccia visiva, lattanti con un'età compresa tra i due e i quattro mesi esposti a una scacchiera luminosa hanno dimostrato un'attivazione dell'area occipitale con un'emodinamica dalle caratteristiche molto simili a quelle osservate nell'adulto. In particolare, ciò che la TO ha permesso di osservare già a partire dai due mesi di vita è un aumento nella concentrazione di ossi-emoglobina e una diminuzione di desossi-emoglobina nella corteccia occipitale in associazione alla stimolazione luminosa, senza comunque specificare se ciò fosse dovuto alla semplice stimolazione luminosa o alla sua struttura a scacchiera, caratterizzata da un'alternanza di frequenze spaziali<sup>17</sup>.

Passando a considerare funzioni cognitive più complesse, una ricerca di Peña e coll.<sup>13</sup>, effettuata presso l'IRCCS "Burlo Garofolo" di Trieste, ha riscontrato che neonati con un'età compresa tra 2 e 5 giorni sottoposti, durante il sonno, all'ascolto di registrazioni di una voce femminile che leggeva una fiaba, presentavano una maggiore attivazione dell'area peri-silviana di sinistra. L'aumento nella concentrazione di emoglobina totale che la TO ha riscontrato in associazione a tale stimolazione non veniva rilevata quando agli stessi soggetti, sempre durante il sonno, veniva fatta ascoltare la medesima registrazione vocale in sequenza rovescia-

ta. Questo studio ha quindi fornito un'importante evidenza della presenza, già alla nascita, di una lateralizzazione emisferica per il linguaggio negli esseri umani. In una successiva ricerca (in corso di pubblicazione) effettuata presso l'Università di Tokyo (cit. in 18), Taga e i suoi collaboratori hanno osservato che, in bambini di età compresa tra i 2 e i 9 mesi, l'ascolto della voce umana durante il sonno non attiva solamente la corteccia temporale di sinistra, ma anche quella di destra e la corteccia occipitale, che viene solitamente associata alla funzione visiva. È stata quindi avanzata l'ipotesi che, nei primi mesi di vita, le connessioni cerebrali tra le aree che elaborano le diverse sensazioni siano molto più strette e numerose e che l'esperienza sensoriale della prima infanzia possa essere caratterizzata, se non da veri e propri vissuti sinestesici, da abilità di trasferimento cross-modale dell'informazione percettiva. La più definita specializzazione delle corteccie sensoriali, osservabile nelle età posteriori, sarebbe attribuibile ai successivi processi naturali di potatura sinaptica e di morte cellulare programmata.

### LE APPLICAZIONI MEDICHE IN CAMPO NEONATOLOGICO

Oltre ai paradigmi di stimolazione sensoriale o cognitiva sinora descritti, un'altra importante applicazione della TO riguarda la rilevazione (anche per periodi prolungati di alcune ore) dell'emodinamica cerebrale in particolari condizioni patologiche, quali encefalopatie di diversa natura, o all'assunzione di farmaci.

Con un approccio di questo tipo, maggiormente orientato ad aspetti di tipo clinico, è stato ad esempio dimostrato che, in neonati estremamente prematuri, il flusso ematico cerebrale è inizialmente molto basso e aumenta già nel corso dei primi 3 giorni di vita come parte di una normale risposta adattiva alla vita extra-uterina<sup>19</sup>. Il basso livello di flusso ematico cerebrale in questo periodo è stato associato a un maggior rischio di emorragia intraventricolare e di leucomalacia periven-

tricolare, con conseguenze dannose sullo sviluppo neurologico<sup>20</sup>. L'identificazione delle cause evitabili di eventi ischemici ha quindi consentito di migliorare i protocolli di intervento attuati nei reparti di terapia intensiva neonatale<sup>21</sup>.

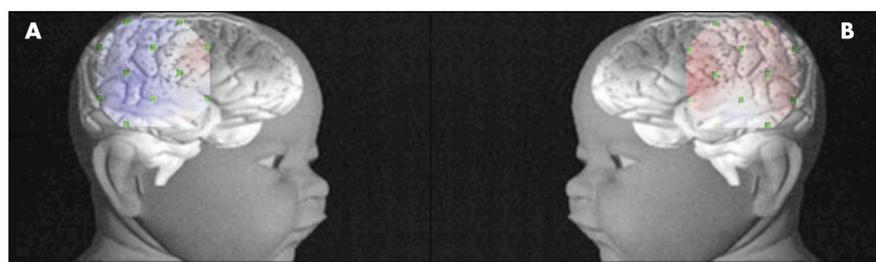
Un ulteriore campo di applicazione della tecnologia NIRS nella ricerca clinica in neonatologia è quello dell'asfissia perinatale: Meek e coll.<sup>22</sup> hanno osservato una correlazione tra la gravità dell'asfissia, l'eventuale danno cerebrale associato e un aumentato volume ematico cerebrale nel neonato, attribuendo tale evidenza alla possibile comparsa di vasoparalisi cerebrale. Gli stessi Autori, comunque, affermano che i risultati ottenuti non sono ancora sufficienti per un loro utilizzo di tipo prognostico.

### LE POSSIBILITÀ FUTURE

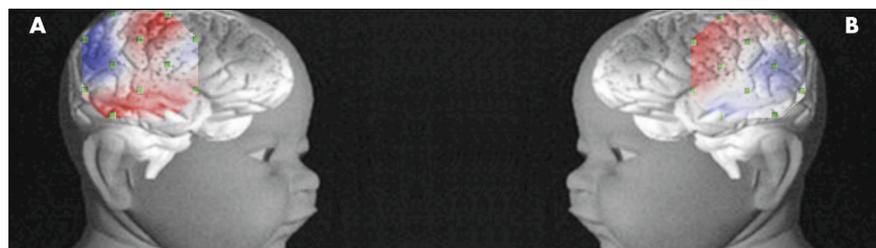
La TO, grazie alla sua non invasività e alle sue potenzialità applicative e di ricerca, sta acquisendo un ruolo sempre più importante nello studio dell'organizzazione e dello sviluppo dell'attività cerebrale a partire dalla primissi-

ma infanzia. Le conoscenze sulla genesi dei processi cognitivi, affettivi e relazionali nel neonato e del loro sviluppo successivo sono ancora molto parziali. Se fino a poco tempo fa le applicazioni della TO in età evolutiva erano relative a funzioni sensoriali o motorie piuttosto semplici, le ricerche più recenti<sup>13,18</sup> hanno utilizzato questo approccio metodologico anche con funzioni più complesse, quali ad esempio il linguaggio, consentendo di avviare uno studio più approfondito sul funzionamento cerebrale neonatale associato a processi mentali superiori fin dalle fasi più precoci del loro sviluppo. Le applicazioni future della TO nel campo delle neuroscienze dello sviluppo dovrebbero pertanto portare a una maggiore comprensione dell'ontogenesi strutturale e funzionale del cervello umano già a partire da poche ore dopo la nascita, svelando la possibile architettura e l'organizzazione di quelle funzioni cognitive e affettive che garantiscono l'accesso alle complessità del mondo di relazione.

Presso l'IRCCS "Burlo Garofolo" di Trieste, il nostro gruppo di ricerca ha impiegato la TO nell'ambito di uno studio, condotto presso il reparto di Tera-



**Figura 5.** Concentrazione dell'emoglobina ossigenata nelle aree esaminate in un neonato, partecipante alla ricerca sull'attivazione corticale associata al dolore da puntura sul tallone per prelievo ematico, a 13 secondi dalla disinfezione del tallone sinistro (la colorazione rossa indica elevati livelli di ossi-emoglobina, quella blu bassi).



**Figura 6.** Concentrazione dell'emoglobina ossigenata nelle aree esaminate nello stesso neonato a 13 secondi dalla puntura sul tallone sinistro: è evidente una maggiore intensità della colorazione rossa, quindi della concentrazione di emoglobina ossigenata.

pia Intensiva Neonatale, che si è occupato di migliorare la prevenzione e la gestione del dolore nel neonato nel corso di alcune procedure diagnostico-terapeutiche dolorose minori. In questo specifico contesto di ricerca, la TO è stata utilizzata per identificare l'attivazione corticale associata all'effettuazione del prelievo ematico mediante puntura al tallone, preceduta dalla somministrazione di una soluzione glucosata quale analgesia non farmacologica, correlandola poi con indicatori oggettivi di espressione del dolore quali la mimica facciale, la frequenza cardiaca e lo stato comportamentale dei piccoli pazienti (Figure 5 e 6)<sup>23</sup>.

È necessario sottolineare che la TO ha tuttora delle limitazioni che dovrebbero essere, se non risolte, almeno migliorate. Tra quelle indicate in letteratura<sup>3,4</sup>, le principali sembrano essere: l'incremento della risoluzione spaziale delle immagini elaborate, realizzabile per esempio aumentando il numero dei punti di emissione e acquisizione del segnale, l'ottimizzazione dei dispositivi per il posizionamento degli optodi sul capo dei soggetti, in particolare per quanto riguarda le applicazioni con bambini molto piccoli o con neonati e lo sviluppo di tecniche di TO, che consentano l'elaborazione di immagini funzionali del cervello in 3 dimensioni.

Oltre che per scopi di ricerca, è sempre più evidente la necessità di disporre di tecniche quali la TO in neonatologia, come strumento di diagnostica funzionale. Le sue attuali difficoltà tecniche (necessità di ambienti non luminosi, non rumorosi e bisogno di limitare, per quanto possibile, i movimenti del bambino) rendono però ancora difficoltoso l'utilizzo corrente dello strumento in ambito clinico. Più specificamente, quello che deve essere ancora oggetto di ricerca è costituito dall'individuazione di metodiche non invasive di valutazione quantitativa della perfusione cerebrale regionale e dell'ossigenazione tissutale nei lattanti e nei neonati. Sebbene i sistemi ultrasonografici portatili siano altamente efficaci nella localizzazione dell'emorragia cerebrale, associata con handicap in una minoranza di sopravvissuti prematuri, si è concluso che la valutazione

ecografica da sola, rilevando un danno anatomico quando questo si è già verificato, non fornisce le informazioni necessarie a prevenire l'insorgenza precoce del danno ipossi-ischemico cerebrale<sup>24</sup>.

La visualizzazione dell'emodinamica e dell'ossigenazione cerebrale mediante la TO, quindi, si sta rivelando una tecnica estremamente interessante da sviluppare, sia come utile e sofisticato strumento di ricerca per la valutazione dell'origine e dello sviluppo delle principali funzioni cognitive, affettive e relazionali (dalle basi del linguaggio parlato a quelle dell'attaccamento), applicabile fin dalla nascita dell'individuo, sia come una possibile futura metodica per la valutazione diagnostica di diverse modificazioni oggettive del flusso cerebrale neonatale. La TO potrà quindi diventare negli anni a venire uno strumento che potrebbe dare un contributo alla comprensione della patogenesi dei danni cerebrali neonatali e alla prevenzione/limitazione dei gravi esiti neurologici a essi associati.

*Ringraziamo la Fondazione Benefica "Kathleen Foreman Casali" che ha reso possibile l'attività di ricerca con la topografia ottica presso l'IRCCS "Burlo Garofolo" di Trieste.*

*Ringraziamo inoltre i genitori della bambina ritratta nella Figura 2 per aver acconsentito alla pubblicazione dell'immagine.*

#### **Indirizzo per corrispondenza:**

Stefano Bembich  
e-mail: [stefbemb@libero.it](mailto:stefbemb@libero.it)

#### **Bibliografia**

1. Meek J. Basic principles of optical imaging and application to the study of infant development. *Dev Sci* 2002;5:371-80.
2. Villringer A, Chance B. Non-invasive optical spectroscopy and imaging of human brain function. *Trends Neurosci* 1997;20:435-42.
3. Gibson AP, Hebden JC, Arridge SR. Recent advances in diffuse optical imaging. *Phys Med Biol* 2005;50:41-3.
4. Aslin RN, Mehler J. Near-infrared spectroscopy for functional studies of brain activity in human infants: promise, prospects, and challenges. *J Biomed Opt* 2005;10:1-2.

#### **MESSAGGI CHIAVE**

□ La topografia ottica è una tecnica non invasiva di imaging funzionale del cervello, che consente di valutare le modificazioni dinamiche del flusso ematico e del metabolismo e le concentrazioni rispettivamente della emoglobina ossigenata, deossigenata e totale con una ragionevole (anche se non ottimale) risoluzione spaziale e temporale.

□ L'assoluta innocuità e l'assenza di disturbi da parte di questo strumento ingegnoso, che lavora cogliendo le differenze spettroscopiche, nell'ambito del "vicino infrarosso", permettono di studiare nel neonato, anche più volte, senza disturbarlo, le risposte di fronte a stimoli sensoriali semplici, ma anche a stimoli cognitivo-affettivi più complessi, e di cogliere diversi momenti dell'ontogenesi del linguaggio.

□ Mediante questa tecnica si è osservato che, già in seconda giornata, il neonato risponde specificamente alla lettura di una fiaba attivando la corteccia temporale di sinistra (mentre non si attiva se il nastro è fatto girare alla rovescia), e che sa riconoscere la voce materna da quella di un estraneo.

□ Lo strumento serve inoltre per valutare l'esistenza e l'entità di situazioni di ipossia e/o di ischemia patologica e per studiare gli effetti dello stimolo doloroso, significativamente diverso nel neonato rispetto all'adulto.

5. Jobsis FF. Noninvasive, infrared monitoring of cerebral and myocardial oxygen sufficiency and circulatory parameters. *Science* 1977; 198:1264-7.

6. Kiguchi M. Effects of Optical Topography measurement on a neonate. *Advanced Research Laboratory, Hitachi Ltd. Rev* 2002;3:1-6.

7. Greisen G. Is near-infrared spectroscopy living up to its promises? *Semin Fetal Neonatal Med* 2006;11:498-502.

8. Brazy JE, Darrel VL, Mitnick MH, Jobsis FF. Noninvasive monitoring of cerebral oxygenation in preterm infants: preliminary observations. *Pediatrics* 1985;75:217-25.

9. Meek JH, Firbank M, Elwell CE, Atkinson J, Braddick O, Wyatt JS. Regional haemodynamic responses to visual stimulation in awake infants. *Pediatr Res* 1998;43:840-3.

10. Sakatani K, Chen S, Lichty W, Zuo H, Wang Y. Cerebral blood oxygenation changes induced by auditory stimulation in newborn infants measured by near infrared spectroscopy. *Early Hum Dev* 1999;55:229-36.

11. Bartocci M, Winberg J, Ruggiero C, Berg-

- qvist LL, Serra G, Lagercrantz H. Activation of olfactory cortex in newborn infants after odor stimulation: a functional near-infrared spectroscopy study. *Pediatr Res* 2000;48:18-23.
12. Isobe K, Kusaka T, Nagano K, et al. Functional imaging of the brain in sedated newborn infants using near infrared topography during passive knee movement. *Neurosci Lett* 2001;299:221-4.
13. Peña M, Maki A, Kovacic D, et al. Sounds and silence: an optical topography study of language recognition at birth. *PNAS* 2003;100:11702-5.
14. Bartocci M, Bergqvist LL, Lagercrantz H, Anad KJS. Pain activates cortical areas in the preterm newborn brain. *Pain* 2006;122:109-17.
15. Fitzgerald M, Shaw A, MacIntosh N. Post-natal development of the cutaneous flexor reflex: comparative study of preterm infants and newborn rat pups. *Dev Med Child Neurol* 1988;30:520-6.
16. Greenough A, Nicolaidis KH, Lagercrantz H. Human fetal sympathoadrenal responsiveness. *Early Hum Dev* 1990;23:9-13.
17. Taga G, Asakawa K, Maki A, Konishi Y, Koizumi H. Brain imaging in awake infants by near-infrared optical topography. *PNAS* 2003;100:10722-7.
18. Spinney L. Optical topography and the color of blood. *The Scientist* 2005;31:25-7.
19. Meek JH, Tyszczuk LT, Elwell CE, Wyatt JS. Cerebral blood flow increases over the first three days of life in extremely preterm neonates. *Arch Dis Child* 1998;78:F33-7.
20. Meek JH, Tyszczuk LT, Elwell CE, Wyatt JS. Low cerebral blood flow is a risk factor for severe intra-ventricular haemorrhage. *Arch Dis Child* 1999;81:F15-8.
21. Tyszczuk LT, Meek JH, Elwell CE, Wyatt JS. Cerebral blood flow is independent of mean arterial blood pressure in preterm infants undergoing intensive care. *Pediatrics* 1998;102:337-41.
22. Meek JH, Elwell CE, McCormick DC, et al. Abnormal cerebral haemodynamics in perinatally asphyxiated neonates related to outcome. *Arch Dis Child* 1999;81:F110-5.
23. Bembich S, Brovedani P, Clarici A, et al. Brain imaging during non-pharmacologic analgesia in newborns. Poster presentato al 2009 Pediatric Academic Societies' Annual Meeting. Baltimore, MD, USA, maggio 2009.
24. Reynolds EO, Wyatt JS, Azzopardi D, et al. New non-invasive methods for assessing brain oxygenation and haemodynamics. *Br Med Bull* 1988;44:1052-75.

