



SAPIENZA
UNIVERSITÀ DI ROMA

DIPARTIMENTO DI PSICOLOGIA DINAMICA E CLINICA

DOTTORATO DI RICERCA IN PSICOLOGIA DINAMICA E CLINICA

XXXII CICLO

*Prime esperienze sociali e correlati epigenetici:
l'influenza dei fattori psicologici genitoriali sull'espressione
genica dei neonati*

Candidata
Dottoressa
Gaia Romana Pellicano

Tutor
Professor Carlo Lai

Co-Tutor
Professoressa
Anna Maria Speranza

*A Ronel,
per la tua temperanza e per altre infinite ragioni,
la tua discendente genetica ed epigenetica*

INDICE

INTRODUZIONE	2
CAPITOLO I – RIFERIMENTI TEORICI	4
<i>1.1. DAI CONFLITTI INTRAPSICHICI ALLA COSTRUZIONE DELLA MENTE RELAZIONALE</i>	4
<i>1.2. TEORIE PSICOANALITICHE E SVILUPPO DELLA RELAZIONE MADRE-BAMBINO</i>	5
<i>1.2.1. LA PSICOLOGIA DELL'IO</i>	6
<i>1.3. LA TEORIA DELLE RELAZIONI OGGETTUALI</i>	8
<i>1.4. BREVI CENNI ALLA TEORIA DELL'ATTACCAMENTO</i>	9
<i>1.5. L'IMPORTANZA DELLA RELAZIONE PER LO SVILUPPO DEL FUTURO BAMBINO</i>	12
<i>1.6. LA COSTRUZIONE DELLA RELAZIONE CON IL BAMBINO PRIMA DELLA NASCITA: L'ATTACCAMENTO PRENATALE</i>	15
<i>1.6.1. L'ATTACCAMENTO PRENATALE E I PROCESSI PSICOLOGICI MATERNI</i>	18
<i>1.7. LA COSTRUZIONE DELLA RELAZIONE CON IL BAMBINO DOPO LA NASCITA: LE PRIME INTERAZIONI E L'ALLATTAMENTO</i>	21
<i>1.8. IL RUOLO DEL PADRE</i>	26
CAPITOLO II – IL COMPLESSO RAPPORTO TRA GENI E AMBIENTE	28
<i>2.1. LA DIFFERENZA TRA “INTERAZIONE GENE-AMBIENTE” E “CORRELAZIONE GENE- AMBIENTE”</i>	29
<i>2.1.1. COME INDAGARE L'INTERAZIONE GENE-AMBIENTE?</i>	31
<i>2.1.2. IPOTESI E INTERPRETAZIONI SULL'INTERAZIONE GENE-AMBIENTE</i>	35
<i>2.2 I POSSIBILI MECCANISMI MOLECOLARI SOTTOSTANTI L'INTERAZIONE GENE- AMBIENTE: INTRODUZIONE ALL'EPIGENETICA</i>	37

2.2.1. <i>LA TRASCRIZIONE GENICA</i>	38
2.3. <i>DIVERSI LIVELLI DI INDAGINE NELLO STUDIO DELL'INTERAZIONE GENE-AMBIENTE</i>	42
2.3.1. <i>L'INFLUENZA DELL'AMBIENTE SOCIALE PRECOCE SULL'ORGANISMO</i>	42
2.3.2. <i>EFFETTI NEUROBIOLOGICI DELLE INTERAZIONI SOCIALI SUL SISTEMA NERVOSO IN VIA DI SVILUPPO</i>	45
2.3.3. <i>EFFETTI EPIGENETICI DELLE INTERAZIONI SOCIALI SUL SISTEMA NERVOSO IN VIA DI SVILUPPO: MODELLI ANIMALI</i>	48
2.3.4. <i>EFFETTI EPIGENETICI DELLE INTERAZIONI SOCIALI SUL SISTEMA NERVOSO IN VIA DI SVILUPPO: I PRIMI STUDI SUGLI ESSERI UMANI</i>	50
2.3.5. <i>OLTRE LA DIADE: EFFETTI EPIGENETICI DELLE INTERAZIONI CON IL PADRE SUL SISTEMA NERVOSO IN VIA DI SVILUPPO</i>	53
CAPITOLO III – EVIDENZA EMPIRICA	57
3.1 <i>INTRODUZIONE</i>	57
3.2 <i>METODO</i>	58
3.2.1. <i>PARTECIPANTI</i>	58
3.2.2. <i>PROCEDURA</i>	59
3.2.3. <i>STRUMENTI</i>	62
3.2.4. <i>ANALISI DEI DATI</i>	65
3.3 <i>RISULTATI</i>	69
3.3.1 <i>ANALISI DESCRITTIVE</i>	70
3.3.2. <i>ANALISI TRA LE VARIABILI GENETICHE: METILAZIONE GLOBALE DEL DNA E POLIMORFISMI</i>	70
3.3.3. <i>METILAZIONE GLOBALE DEL DNA DEL BAMBINO E VARIABILI PSICOLOGICHE DEI GENITORI</i>	72

<i>3.3.4. VARIABILI PSICOLOGICHE DEI GENITORI</i>	79
<i>3.4. DISCUSSIONE</i>	80
<i>3.5. CONCLUSIONI</i>	88
RINGRAZIAMENTI	90
BIBLIOGRAFIA	91
APPENDICE	130

Introduzione

La presente ricerca nasce dall'intenzione di esplorare gli effetti dell'ambiente sociale precoce su eventuali modificazioni epigenetiche. Le interazioni dinamiche tra geni e ambiente durante le prime esperienze di vita possono portare a diversi percorsi psicobiologici in età adulta. Le evidenze provenienti da studi su modelli animali hanno mostrato un legame diretto tra l'ambiente sociale precoce e gli effetti a lungo termine sui sistemi neurali. Tali effetti neurobiologici sembrano essere, in parte, mediati da cambiamenti epigenetici che consentono di alterare l'attività di alcuni geni, senza modificare le sequenze nucleotidiche ereditate. Lo scopo generale di questo lavoro di tesi è stato proprio quello di indagare se le variabili psicologiche dei genitori e le interazioni precoci tra costoro e il proprio bambino fossero associate a cambiamenti epigenetici nella metilazione globale del DNA del bambino nel primo mese di vita. In quest'ottica il presente lavoro di tesi ha indagato il possibile impatto delle prime relazioni tra il neonato e i genitori sia da un punto di vista psicologico sia epigenetico. Considerata la complessità del fenomeno oggetto della presente tesi, si è cercato di esplorare l'interconnessione tra ambiente e geni tenendo conto di diversi livelli di indagine, da una prospettiva molecolare a un quadro più ampio di stampo psicologico dinamico.

Nel primo capitolo viene presentata una panoramica di diverse teorie psicoanalitiche e psicologiche che hanno fornito le basi teoriche e scientifiche dello studio della relazione tra madre e bambino. Dalla concezione iniziale classica di neonato come insieme di spinte pulsionali si descrivono le prime teorie che considerano la relazione tra madre e bambino come centrali per lo sviluppo dell'individuo. In quest'ottica, viene poi trattata la teoria dell'attaccamento e i successivi sviluppi teorici e concettuali che da essa sono derivati. Nella parte finale del capitolo, dopo aver introdotto i principali risultati dell'*Infant Research*, si è descritto il costrutto dell'attaccamento prenatale, definito come l'investimento emotivo dei genitori nei confronti del futuro bambino. Il capitolo si conclude con una disamina dell'importanza del ruolo del padre, spesso trascurato, nello studio dell'influenza delle prime relazioni sullo sviluppo del bambino.

Il secondo capitolo ripercorre le controversie nello studio del rapporto complesso tra geni e ambiente. Vengono presentati i principali modelli di indagine nello studio dei polimorfismi genici in relazione al comportamento e la svolta teorica che ha visto i polimorfismi, non solo come fattori di rischio per lo sviluppo, ma anche come una possibilità di maggiore sensibilità

all'ambiente. Da questa inversione di rotta nello studio dell'interazione tra geni e ambiente, viene introdotta l'epigenetica. Dapprima il capitolo tratta l'epigenetica da un punto di vista squisitamente molecolare, analizzandone i meccanismi di base, per poi via via ampliare la prospettiva includendo gli studi più recenti sull'influenza dell'ambiente sociale precoce sull'organismo. Andando sempre più nello specifico, vengono introdotti gli effetti dell'ambiente sociale sul sistema nervoso in via di sviluppo e vengono descritti gli effetti epigenetici prodotti dalle interazioni precoci con la madre. Infine, specularmente al primo capitolo, vengono discussi gli effetti epigenetici delle interazioni con il padre sul sistema nervoso in via di sviluppo.

Nel terzo capitolo, viene presentata la ricerca longitudinale che si è posta l'obiettivo di indagare, dalla nascita al primo mese di vita, il rapporto tra le variabili psicologiche dei genitori, la qualità della relazione tra la madre e il bambino e i meccanismi epigenetici di metilazione globale del DNA del bambino e della madre. Vengono descritti i metodi della ricerca e discussi i risultati principali.

Infine, è stata inserita un'appendice in cui sono presenti i diversi strumenti utilizzati nella ricerca longitudinale.

Capitolo I

Riferimenti teorici

1.1. Dai conflitti intrapsichici alla costruzione della mente relazionale

Le teorie psicoanalitiche si trovano in un costante stato di evoluzione e non sono da considerarsi come un unico *corpus* statico di conoscenze. Di pari passo con l'evoluzione delle conoscenze psicoanalitiche, le teorizzazioni relative lo sviluppo della mente e le concettualizzazioni relative al neonato si sono largamente modificate nel corso del tempo.

Dagli albori della storia della psicologia, il neonato è stato considerato come un organismo, in balia di una “ronzante e pullulante confusione” (James, 1890) dei suoi processi mentali e dei suoi stati interni. Freud stesso definisce il bambino come un “polimorfo perverso” che dovrà attraversare una serie di fasi per liberarsi dalla sua condizione di assoluta dipendenza dall'oggetto e raggiungere una progressiva autonomia (Freud 1905). Tuttavia, è proprio Freud il primo ad attribuire un significato allo sviluppo della mente, collegandolo alle esperienze infantili (Freud & Breur, 1895). Le scoperte di Freud hanno senza dubbio cambiato la generale percezione del bambino, che da individuo innocente e idealizzato diviene una persona che lotta per raggiungere il controllo dei propri bisogni biologici e renderli accettabili prima alla famiglia e poi alla società. Gli psicologi dell'Io hanno bilanciato questa visione concentrandosi sull'evoluzione delle capacità adattative del bambino per far fronte ai propri bisogni biologici (Hartmann, 1939).

Hartmann (Hartmann, Kris, Loewenstein, 1949) collegando le pulsioni e le funzioni dell'Io, ha cercato di ampliare la visione del processo evolutivo, mostrando come esperienze interpersonali molto negative possano mettere a repentaglio l'evoluzione delle strutture psichiche essenziali per l'adattamento all'ambiente. Hartmann (1955) è il primo ad affermare che la persistenza di un particolare comportamento può avere motivazioni diverse da quella della sua manifestazione originaria, sottolineando così la complessità dei processi di sviluppo. Senz'altro agli psicologi dell'Io va riconosciuto il merito di aver riconosciuto che la dotazione genetica e le esperienze interpersonali possano essere elementi critici nel determinare il percorso evolutivo del bambino.

Fairbairn (1954) sottolineerà per primo come il bambino non entri in relazione con le sue figure di accudimento per cercare la soddisfazione del piacere, ma per la ricerca dell'“oggetto” in sé.

1.2. Teorie psicoanalitiche e sviluppo della relazione madre-bambino

Facendo riferimento alla teoria pulsionale di Freud, una pulsione istintuale ha uno scopo, principalmente determinato dalla genetica e solo parzialmente influenzato dalle variazioni ambientali, e un oggetto. L'oggetto di una pulsione può essere definito come l'agente attraverso il quale lo scopo istintuale viene raggiunto, e usualmente tale agente è un'altra persona. Generalmente, nel caso di bambini, si è concordi nel considerare la madre come primo oggetto pulsionale (Ainsworth, 1969; Ainsworth & Wittig, 1969). Nel 1905, Freud specificherà che il primo oggetto d'amore del bambino è il seno della madre, e si riferirà alla relazione precoce del succhiare come prototipo delle successive relazioni d'amore che si svilupperanno nel corso della vita adulta. Già dalla prima definizione, tuttavia, Freud amplierà le basi delle primissime relazioni, al di là della semplice oralità. La madre, accarezzando il bambino, baciandolo e cullandolo sta già insegnando al neonato "come amare" (p.222). Freud caratterizzò questa prima relazione oggettuale come "anaclitica", perché egli, in questa fase dello sviluppo, vedeva gli istinti sessuali come qualcosa che si potesse appagare attraverso gli istinti di autopreservazione, implicando che questo amore anaclitico dipendesse principalmente dall'essere nutriti (p.87). Successivamente, Freud osserva argutamente l'ansia di separazione di cui il bambino fa esperienza quando la madre è assente o sembra allontanarsi. L'osservazione dei segnali di separazione, che più avanti guideranno lo sviluppo della teoria dell'attaccamento, viene da Freud associata al pericolo che il bambino avverte di rimanere insoddisfatto nei suoi bisogni corporei ([1926]1979). È nel 1931 che Freud riconosce a pieno l'importanza della relazione di legame tra madre e bambino e delle sue durevoli conseguenze. Tuttavia, nonostante venga definito in modo inequivocabile l'importanza del rapporto madre-bambino, Freud appare talvolta incompleto, a volte contraddittorio, lasciando, di conseguenza, spazio a divisioni concettuali nelle successive teorizzazioni riguardo l'origine e lo sviluppo di questo legame precoce. Da una parte, si sviluppa un gruppo di teorici più legati all'enfasi di Freud sulla labilità degli oggetti e alla sua visione in cui il bambino acquisisce la madre come oggetto attraverso la propria dipendenza da essa per la soddisfazione dei bisogni corporei. Lo sviluppo della relazione con l'oggetto è, anche, strettamente intrecciato con lo sviluppo dell'io, e dunque con l'acquisizione di strutture cognitive non presenti alla nascita. In tale filone teorico rientrano gli studiosi noti come gli psicologi dell'io. Dall'altra parte, prendendo spunto, implicitamente o meno, dal concetto di Freud di "fondazione filogenetica", in cui la

relazione con l'oggetto è primaria e non secondaria e acquisita, si sviluppa il filone teorico delle relazioni oggettuali.

1.2.1. La psicologia dell'Io

Gli psicologi dell'Io hanno enfatizzato lo sviluppo dello sviluppo delle relazioni con l'oggetto nel contesto dello sviluppo delle funzioni dell'Io. Nonostante le differenze tra i diversi autori, vi è un generale accordo sul fatto che il neonato sia un organismo quasi interamente indifferenziato, da un punto di vista strutturale, topografico e dinamico. Il neonato non può differenziare tra gli oggetti nel proprio ambiente, né tra le persone e gli oggetti. Ovviamente, egli non può nemmeno distinguere se stesso dal proprio ambiente, il che implica che non può discriminare tra un input sensoriale proveniente dal proprio corpo o dal un input sensoriale proveniente dal mondo esterno. Considerato tale fallimento discriminativo, il neonato è descritto come un essere che esperisce ogni stimolazione come parte di sé, e, dunque, tutta la sua energia libidica è contenuta dentro di sé. La sua esperienza varia tra degli stati di tensione (di solito, affetti spiacevoli) e stati di relativa quiescenza. Dal momento che il neonato non è in grado di distinguere tra sé e la madre, egli non può considerare la madre come "oggetto", né tantomeno come oggetto d'amore. Tale primo periodo di vita è caratterizzato da quello che Freud chiamava "narcisismo primario". Successivamente, nei primi 12 mesi di vita all'incirca, il bambino va incontro a profonde trasformazioni. Le funzioni dell'Io iniziano a emergere. Il bambino diverrà capace di distinguere tra sé e non-sé; la sua passività lascerà il posto a un'interazione più attiva con l'ambiente esterno; raggiungerà un sostanziale grado di competenza; e sarà in grado di creare una distinzione netta tra le persone, definendo delle preferenze verso le figure principali di attaccamento.

In generale, lo sviluppo delle relazioni con gli oggetti è visto come suddiviso in tre passaggi principali: lo stadio indifferenziato o "senza oggetto"; lo stadio transizionale; lo stadio delle relazioni con l'oggetto.

Anna Freud, più esplicitamente degli altri, lega l'origine della relazione con l'oggetto al bisogno di gratificazione ponendo particolarmente l'accento sulla relazione di nutrimento. Le esperienze affettive del bambino includono sia la presenza di tensioni sgradevoli, sia il piacere associato al rilascio di tali tensioni. L'investimento libidico durante questo periodo è associato alla "beata esperienza di soddisfazione e rilascio" (A. Freud, 1954). Quando il bambino non è in uno stato di tensione, egli è auto-centrato e auto-sufficiente-in uno stato *narcisistico*-ma quando si trova sotto la pressione di un urgente bisogno corporeo, egli

“periodicamente stabilisce connessioni con l’ambiente, dal quale poi si ritira nel momento in cui il bisogno è stato soddisfatto e la tensione è stata rilasciata”. Queste prime occasioni di soddisfazione dei bisogni e piacere divengono “il centro di interesse a cui l’energia libidica diviene attaccata” (A. Freud, 1946). Tale visione implica che, all’inizio, il bambino non è in uno stato di amore con la madre, ma ha investito di affetto l’esperienza del nutrimento.

Il concetto di simbiosi è stato modificato dagli psicoanalisti dal suo originale significato biologico di mutua dipendenza. Margaret Mahler (1965), ad esempio, definisce come compito primario per il bambino in questa fase iniziale, quello di divenire separato dalla madre, di “schiudersi”, anziché di divenire emotivamente attaccato a ella. Durante lo stadio di transizione, nel periodo tra il primo stadio indifferenziato e quello in cui vengono nettamente stabilite le relazioni con l’oggetto, si sviluppano alcune funzioni dell’io e si può parlare di quello che è definito come “io corporeo”. I recettori distali iniziano ad assumere un’importanza, la memoria inizia a lasciare traccia delle esperienze, emergono alcuni comportamenti orientati. Si inizia a fare una distinzione tra sé e non-sé, tuttavia il bambino è visto ancora come incapace di investire libidicamente un oggetto vero. Per Anna Freud, la relazione tra bambino e madre è ancora anaclitica, rimanendo ancora ancorata al bisogno di soddisfazione legato al cibo (A. Freud, 1946). Tuttavia, il bambino muove i suoi passi dal precoce investimento dell’esperienza di soddisfazione del bisogno-nutrimento all’investimento del cibo come fonte di piacere. In questa fase il bambino “ama” il latte, il seno o il biberon (A. Freud, 1946).

Sarà Spitz nel 1965 a distinguere l’inizio del secondo stadio, che chiamerà “precursore dell’oggetto”, con la comparsa della risposta di sorriso, che egli considera una risposta specie-specifica al viso umano. Va sottolineato, comunque, che la comparsa di tale risposta non implica l’investimento del viso, dato che il viso è indiscriminato in questo periodo, ma il sorriso in risposta a uno stimolo indica un passaggio da una organizzazione interocettiva autonoma ad un’organizzazione percettiva più differenziata che rende possibile l’inizio della formazione dell’io e delle relazioni sociali. Tuttavia, nei lavori di Spitz rimane ancora centrale il bisogno di gratificazione. Il sorriso è visto come un segnale affettivo di una gratificazione attesa. Un’altra caratteristica del secondo stadio è, per Anna Freud (1954) e Kris (1951), l’insorgenza dell’abilità di anticipare la situazione di nutrimento e aspettarla. Benedek (1952) identifica una sequenza di comportamenti che riflettono un graduale sviluppo di tale abilità: il bambino trova la propria bocca per succhiarsi il dito; segue la madre con i propri occhi; volta la propria testa per sorridere alla madre; e attende guardando

mentre si prepara il cibo. Se tali passaggi seguono un corso positivo, il bambino sviluppa un senso di fiduciosa aspettativa che i suoi bisogni saranno soddisfatti, formandosi una fiducia di base che permette al bambino di passare dall'osservazione delle proprie tensioni interne all'attenzione rivolta verso l'ambiente esterno (Erikson, 1950, 1959). Azioni sempre più direzionate verso un obiettivo, attive e consapevoli dipendono anche dall'esperienza di sentirsi separati dall'obiettivo stesso. Attorno ai sei mesi di età, emergono sempre più esperienze di consapevolezza, in cui il bambino si percepisce sia passivo che agente attivo di qualche cambiamento, ma questa "distinzione crescente può temporaneamente venire meno in molte occasioni" (Escalona, 1953). Nell'ultimo passaggio dello sviluppo, lo stadio delle relazioni con l'oggetto, secondo Anna Freud (1965), la costanza dell'oggetto permette un'immagine interna positiva dell'oggetto che viene mantenuta, indipendentemente sia dalla soddisfazione sia dalla mancata soddisfazione. Il bambino, ora, è in grado di percepire chiaramente la propria madre come separata da sé, di mantenere un legame con lei, all'infuori della gratificazione dei suoi bisogni momentanei e in modo indipendente dalla reale presenza della madre, anche se l'oggetto interno è ancora troppo fragile per sopperire a lunghe assenze. Spitz (1959) segna l'inizio di questo periodo con l'osservazione del repentino insorgere dell'ansia in risposta a estranei. Tale risposta, che aumenta se la madre è assente, implica che il bambino sia in grado di distinguere tra il volto della madre e quello di uno sconosciuto, facendo un confronto tra tracce mnestiche e informazioni percettive. Secondo Spitz (1965, p.156) prima della testimonianza della presenza di tali tracce mnestiche "dell'oggetto d'amore" non si può parlare di legame affettivo, di amore, perché non c'è un oggetto d'amore "finché esso rimane intercambiabile".

1.3. La teoria delle relazioni oggettuali

Ferenczi (1909), fautore della teoria delle relazioni oggettuali, disconosce esplicitamente il concetto di narcisismo primario e sostiene l'instaurarsi di relazioni oggettuali primitive sin dalla nascita. La teoria delle relazioni oggettuali, più di quanto non si possa dire per la psicologia dell'Io, condivide una maggiore compatibilità con l'approccio etologico. Melanie Klein (1952) descrive come i bambini, già a tre settimane, interrompono la suzione per guardare al viso della madre, o come, già attorno alle due settimane, rispondono alla voce della madre e al sorriso con un cambiamento dell'espressione facciale, indicando "che la gratificazione sia più associata all'oggetto che da il cibo che non al cibo in sé" (p.239). Tuttavia, la teoria kleiniana rimane ancorata dominata dal cibo, l'oralità e il seno materno.

Il primo oggetto relazionale, infatti, è il *seno buono*, quello amato, e il *seno cattivo*, quello odiato. Il primo a non dare tale rilevanza all'oralità, nonostante non faccia esplicita menzione all'origine del legame madre-bambino, è Donald Winnicott (1948;1953;1960) nella sua discussione sulla madre "sufficientemente buona". Nelle sue trattazioni, inizia a delinearci come maggiormente importante il contenimento fisico -l'*holding*-, che è considerato una forma basilare dell'amore materno, che rappresenta quasi l'interezza del sostegno fornito dall'ambiente esterno. Winnicott arriva a postulare la sua famosa frase "non esiste qualcosa come il bambino da solo, ma esiste solo come parte di una relazione" (Winnicott, 1965). Con Winnicott (1989), dunque, si arriva a teorizzare che "lo sviluppo non si deve all'opera di una tendenza ereditaria [...], ma ha luogo perché il bambino incontra il comportamento adattivo della madre o di un suo sostituto" (Della Vedova, Imbasciati, 2005).

È interessante notare come, nel tentativo di ricostruire quale sia l'esperienza del bambino, gli psicoanalisti classici, anche quelli che hanno perseguito un'osservazione diretta, più o meno sistematica, del comportamento del bambino, abbiano fatto inferenze su quello che accadeva *all'interno* del bambino, sulle sue percezioni, affetti, desideri, così come sulla sua energia interna (Ainsworth, 1969). Allo stesso tempo, è vero che i fenomeni comportamentali non sono ugualmente comprensibili senza ricorrere a concetti di strutture e processi interni che non sono osservabili direttamente (*ibidem*).

Il corpo di evidenze emergente dal campo dell'etologia e dagli studi sull'*imprinting* (Bateson 1966; Sluckin, 1965) ha mostrato che il legame madre-bambino si forma molto precocemente attraverso meccanismi che non sono legati a motivazioni fisiologiche primarie e in assenza di ricompense convenzionali (Lorenz, 1957).

1.4. Brevi cenni alla teoria dell'attaccamento

Il livello di indagine del presente lavoro si focalizza su cambiamenti a livello genetico che sembrano essere lontani e indifferenti alle dinamiche affettive che si susseguono nella creazione e nello sviluppo delle relazioni tra un bambino e i propri genitori. Eppure, una trattazione che abbia la pretesa di indagare eventuali cambiamenti a livello epigenetico dello scambio interattivo tra i genitori e i propri neonati, seppure in un breve arco di tempo, non può prescindere dal fare riferimento alla teoria dell'attaccamento (Bowlby, 1958;1969;1979).

A John Bowlby (1958) va riconosciuto il merito di essere stato tra i primi ad aver riconosciuto che il piccolo dell'uomo fa il proprio ingresso nel mondo essendo già

predisposto a partecipare all'interazione sociale. Tale scoperta è divenuta rapidamente per la psicologia evolutiva un punto di riferimento per gli studi successivi, portando a brillanti osservazioni, come quelle condotte da Meltzoff e Moore (1977) sull'imitazione della mimica facciale di un adulto da parte di neonati piccolissimi, abilità che può rivelarsi molto utile nel facilitare le interazioni con sociali già dai primi giorni di vita (Meltzoff, 1995).

Bowlby non era convinto della correttezza delle teorie psicoanalitiche dominanti nel XX secolo che sostenevano che il legame affettivo con il caregiver fosse una pulsione secondaria, mossa dal bisogno di gratificare una tensione orale. Similmente alla teoria psicoanalitica classica, nella cornice della quale comunque Bowlby si era formato, la teoria dell'attaccamento di Bowlby ha un focus di tipo biologico (nello specifico Bowlby, 1969). Il bisogno di vicinanza espresso dal bambino nel momento della minaccia di separazione dal caregiver viene ridotto a un livello "molecolare" dei comportamenti del bambino, che mostra innati, "genetici", segnali, quali il sorriso e le vocalizzazioni, con lo scopo di attirare l'attenzione dell'adulto in modo da garantirsi vicinanza e la possibilità di intraprendere interazioni sociali (Fonagy e Target, 2005). I comportamenti di segnalazione mostrati dal bambino, così come dagli altri piccoli di mammiferi, sollecitano comportamenti di accudimento negli adulti, garantendo prossimità al caregiver, oltre che nutrimento, apprendimento delle norme e delle regolarità dell'ambiente circostante, dell'interazione sociale e della protezione dai predatori. Bowlby, prendendo in prestito il termine dal campo dell'etologia, considera i comportamenti di attaccamento come parte di un "sistema comportamentale", schierandosi con questa visione in aperto contrasto con la psicoanalisi. Un "sistema comportamentale" non è derivato da un'altra pulsione e implica una motivazione intrinseca. A conferma di questa interpretazione, si faccia riferimento agli studi di Harlow (1958), in cui viene chiaramente mostrato come il bisogno di prossimità sia indipendente dal bisogno di essere nutrito, o al fatto che il legame di attaccamento si verifichi anche nei confronti di figure abusanti (Bowlby, 1956).

Rispetto alle precedenti concettualizzazioni psicoanalitiche, Bowlby porrà una sottile ma cruciale differenza nell'intendere le spinte dei comportamenti umani. Il fine ultimo del comportamento del bambino non è più la madre, l'"oggetto" (per esempio Fairbairn, 1952; Freud, 1905) utile per scaricare una tensione interna. Lo scopo che regola il sistema comportamentale è inizialmente uno stato fisico, cioè il desiderio di mantenere una prossimità spaziale con la madre. Successivamente, questo stato fisico viene soppiantato da uno scopo di natura più psicologica, cioè il sentimento di vicinanza al caregiver. Questo passaggio suggerito da Bowlby, dalla soddisfazione di un bisogno fisico al bisogno di

un'esperienza psicologica, a partire da uno stato fisico, diventa fondamentale per le successive prospettive teoriche nel campo della psicologia evolutiva. Dato che lo scopo dello schema comportamentale non è più un oggetto statico, ma diventa uno stato o un sentimento, diventa cruciale la risposta da parte del contesto in cui vive il bambino, cioè, in questo caso, la risposta da parte del caregiver. L'ambiente sociale in cui il bambino metterà in atto quello schema comportamentale, per soddisfare il suo bisogno di "sentirsi vicino", influenzerà fortemente il sistema di attaccamento: se il bambino, attraverso la risposta da parte del caregiver, percepisce che il suo scopo di attaccamento è stato raggiunto, questo avrà una forte influenza sulle aspettative dei futuri scambi con l'ambiente, e, dunque, sul modo in cui il bambino manifesterà il sistema dei comportamenti (Fonagy & Target, 2005).

Secondo Bowlby (1973), lo scopo del sistema di attaccamento è il mantenimento dell'accessibilità e responsività del caregiver, che fa rientrare sotto l'unico termine di "disponibilità". Sarà solo successivamente, nella terza sezione del libro, che Bowlby tratterà degli aspetti cognitivi del sistema di attaccamento, introducendo il concetto che darà poi luce ad una lunga serie di studi successivi. L'aspetto cognitivo nella valutazione del sistema di attaccamento ha, infatti, un ruolo cruciale nello sviluppo della mente del bambino. Bowlby sostiene che la "disponibilità" implichi l'aspettativa fiduciosa, derivata da una rappresentazione "abbastanza esatta" (Bowlby, 1973) dell'esperienza fatta in merito alla disponibilità della figura di attaccamento, avuta in un periodo di tempo significativo. Il sistema comportamentale dell'attaccamento, quel sentimento di bisogno di vicinanza, è così sostenuto da una serie di meccanismi di ordine cognitivo, discussi da Bowlby come modelli rappresentazionali o modelli operativi interni. Come sottolineato da Fonagy e Target (2005), l'influenza di Piaget su Bowlby è rintracciabile in questa concettualizzazione in cui, lo sviluppo di processi cognitivi si affianca a una prospettiva evolutiva che finora era stata trattata solo su un piano affettivo o fantasmatico. Successivamente l'interesse di Bowlby per la psicologia cognitiva, e *l'information processing*, lo porterà a integrare i propri modelli rappresentazionali con le modalità di accesso all'informazione, per cui differenti pattern di attaccamento rifletteranno differenze individuali nell'accesso ad alcuni tipi di pensieri, sentimenti e memorie. L'accesso cognitivo ed emotivo all'informazione relativa all'attaccamento emerge in funzione della natura delle relazioni infantili tra bambino e caregiver (Bowlby, 1977; 1980).

Per comprendere l'influenza delle prime relazioni nello sviluppo psicologico del bambino, può essere utile riepilogare i quattro sistemi rappresentazionali concettualizzati nelle successive e molteplici rielaborazioni del concetto originale di Bowlby: le aspettative sulle

caratteristiche interattive dei primi caregiver vengono create nel primo anno di vita ed elaborate successivamente; si creano rappresentazioni di eventi relazionali, attraverso i quali vengono codificati e rievocati ricordi generali e specifici rispetto alle esperienze di attaccamento; i ricordi autobiografici vengono connessi tra loro concettualmente, in virtù della loro relazione con il continuo processo di narrazione personale e lo sviluppo della comprensione di sé; dall'interconnessione delle proprie rappresentazioni si sviluppa la capacità di comprendere le caratteristiche psicologiche delle altre persone e si articola il processo di differenziazione dalle caratteristiche del sé (Main et al., 1985; Crittenden, 1990; Sroufe, 1990, 1997; Bretherton & Munholland, 1999).

Bowlby e i successivi studiosi dell'attaccamento hanno suggerito che è la natura ricorrente delle esperienze del bambino che porta allo sviluppo di rappresentazioni interne o "modelli operativi" di sé e degli altri, di rappresentazioni generalizzate di eventi vissuti, che influenzano le esperienze emotive e le aspettative del bambino durante lo sviluppo (Bowlby, 1973; Bretherton, 1980; Bretherton & Munholland, 1999; Main, Kaplan & Cassidy, 1985). Coerentemente, un'ampia letteratura empirica ha documentato come le variazioni nelle interazioni sociali nei primi mesi di vita predicono le successive traiettorie di sviluppo sociale e cognitivo (Beebe & Lachmann, 2002, per una review della letteratura). Main e colleghi (1985, p.67) hanno definito i modelli operativi interni come un "set di regole conscie e inconscie per l'organizzazione delle informazioni rilevanti relative all'attaccamento (...) che portano alle differenze individuali nella rappresentazione mentale del sé in relazione all'attaccamento (...) [e che] dirige non solo i sentimenti e il comportamento, ma anche l'attenzione, la memoria e la cognizione".

Il concetto dei modelli operativi interni è coerente con la letteratura sperimentale, orientata da quesiti clinici, proposta dal filone di ricerca dell'*Infant Research*.

1.5. L'importanza della relazione per lo sviluppo del futuro bambino

A partire dalla teoria dell'attaccamento, che ha fornito le prime evidenze sperimentali di come la mente del bambino si basi e si organizzi sui modelli delle relazioni con le figure affettive di riferimento, si iniziano a creare nuove prospettive che abbandonano l'idea pulsionale della psicoanalisi e iniziano a evidenziare come il bambino si sviluppi attraverso processi interpersonali e non per processi interni che seguono stadi maturativi organizzati (Ammaniti & Stern, 1992).

Alla luce delle influenze dell'etologia, della cibernetica, della teoria evoluzionistica e, naturalmente, dalla psicoanalisi, nel suo studio sulle origini dell'attaccamento, Bowlby (1958;1969) mantiene una visione sistemica, concettualizzando pattern di comportamento, stimoli e condizioni in grado di attivarli o farli terminare, che si muovono all'interno di un contesto sociale. Egli ha descritto dei pattern di comportamento che sono correggibili e corretti in base al feedback che deriva dall'ambiente (Beebe et al. 2010).

La teoria di Bowlby è del tutto coerente con l'attuale "modello di mutua regolamentazione" (Tronick, 1989) che deriva dalle osservazioni empiriche della ricerca sui bambini. Sia la madre che il bambino contribuiscono in modo essenziale alla regolazione della relazione di attaccamento. Bowlby (1958)

ha descritto 5 risposte del bambino: succhiare, aggrapparsi, seguire, piangere e sorridere, che "assolvono la funzione di unire il bambino alla madre e contribuiscono alla dinamica reciproca di attaccamento della madre al bambino" (Bowlby, 1958). Tuttavia, Fox (1994) ha notato che mentre le nozioni del controllo regolatorio reciproco erano fondamentali per il pensiero di Bowlby (1969), non sono rimaste così centrali nel filone di ricerca sulle origini dell'attaccamento.

Il concetto dei modelli operativi interni è coerente con la letteratura sperimentale sulle rappresentazioni procedurali e la contingenza del bambino (Beebe et al., 2010). La percezione delle relazioni contingenti permette al bambino di sviluppare aspettative continuative delle sequenze di eventi, all'interno di sé, dell'altro e tra i due. Questa forma procedurale di rappresentazione è basata sulla prevedibilità degli eventi e sulla percezione del grado di controllo contingente sugli eventi (Beebe & Lachmann, 1988; 2002; Stern, 1985; Tarabulsky et al., 1996). I bambini, nei primi mesi, percepiscono il tempo e possono stimare le durate degli eventi che durano secondi o frazioni di secondi, sono in grado di rilevare le caratteristiche degli stimoli, come le forme del viso, i pattern temporali e le traiettorie spaziali, possono tradurre in modo multimodale, ad esempio tra canali visivi e uditivi, facilitando l'astrazione di uno schema attraverso diverse modalità. I neonati possono determinare se i pattern di comportamento sono tra loro simili o diversi, possono riconoscere occorrenze, generando regole che governano le loro aspettative (Cecchini, et al., 2013; Beebe & Lachmann, 2002; Beebe, 2005; Bornstein, 1985; Lewkowicz, 2000; Stern, 1985). Tali aspettative generalizzate si basano su pattern seriali e ripetitivi (Fagen, et al., 1984), che sono una delle caratteristiche principali degli scambi comunicativi (Beebe, et al., 2010).

Nel creare modelli delle interazioni sociali, i bambini apprendono le corrispondenze tra le trasformazioni del corpo che vedono (ad esempio, l'apertura della bocca) e le proprie

trasformazioni corporee che non possono vedere. Attraverso gli esperimenti di imitazione, Meltzoff sostiene che i bambini siano biologicamente predisposti a percepire corrispondenze transmodali tra quello che loro vedono sul volto di un partner comunicativo e quello che loro percepiscono propriocettivamente sul volto (Meltzoff, 1977; Meltzoff & Moore, 1998). Secondo Meltzoff, la percezione del bambino di queste corrispondenze fornisce al bambino una relazione fondamentale tra sé e altro.

Meltzoff (1985) sostiene che, poiché i bambini utilizzano le corrispondenze per organizzare le loro risposte, essi rappresentano queste azioni. Questa rappresentazione non è solo una mera immagine visiva o una copia iconica, ma piuttosto una descrizione dell'evento multimodale, che utilizza informazioni visive, uditive e motorie.

La rappresentazione costituisce un modello con cui quale il bambino può confrontare la propria prestazione e guidare il comportamento. Tramite la percezione delle corrispondenze transmodali, sia il bambino che il partner percepiscono lo stato affettivo dell'altro, e possono intuire se tale stato sia condiviso (Meltzoff, 2007).

Trevarthen (1977) e Stern (1985, 1995) sostengono che i bambini siano sensibili a corrispondenze non solo di forma, ma anche di tempo e intensità, in modo trasversale tra le modalità sensoriali.

Nel lavoro di Stern (1985, 1995) vi è un'associazione esplicita tra le corrispondenze transmodali e gli stati affettivi condivisi con l'attaccamento infantile (1985, 1995).

A partire dai suoi studi empirici, Stern rovescerà il modello classico, proponendo in primo piano la capacità del bambino di sperimentare fin dai primi mesi di vita la formazione di un'organizzazione del Sé, mostrando una differenziazione Sé-altro molto precoce. Stern forma le sue teorizzazioni a partire dall'osservazione naturalistica del bambino, distinguendosi dalla "baby observation" che era stata condotta dai teorici kleiniani, e focalizza la sua attenzione sui processi di continuità-discontinuità delle interazioni madre-bambino fin dai primi periodi di vita. In tal modo, Stern si allontana definitivamente dallo schema della psicoanalisi classica dello sviluppo psicosessuale del bambino, dal concetto di simbiosi e, soprattutto, dal concetto di narcisismo primario. L'interazione sociale e la ricerca di stimoli diventano il motore primario del comportamento del bambino di Stern, che attraverso le cosiddette "danze interattive" tra madre e bambino, organizza la propria esperienza sociale, sulla base di costanti invarianti che vengono acquisite nel corso delle diverse esperienze.

Fin dai primissimi momenti di vita, il bambino di Stern ha la capacità e soprattutto il bisogno di relazionarsi con il mondo esterno, e non è più indistinto e incapace di interazioni con gli

altri, come lo volevano le precedenti teorie (Stern, 1977). Attivamente, il neonato interagisce con la realtà, ricavando dalle prime e semplici stimolazioni percettive, un emergente senso di sé, che continua a strutturarsi negli anni nel corso della relazione con la madre. Il processo di costruzione del sé attraversa differenti fasi che procedono in parallelo con le interazioni che si sviluppano nel rapporto con la madre. Le interazioni madre-bambino divengono, per Stern, centrali per lo sviluppo del Sé e, in tale prospettiva, la psicopatologia è intesa come la cronicizzazione di modelli relazionali non sintonizzati, come comportamenti materni di regolazione affettiva ipo- o iper-stimolanti, che alterano la capacità del bambino di una costruzione del senso di Sé continuo e capace di essere in relazione (Stern, 1995).

Dunque, la rappresentazione di un neonato “passivo” viene via via sostituita da quella di un neonato sempre più competente socialmente, mettendo in luce come non solo il neonato abbia la capacità di elaborare informazioni che arrivano dalla realtà esterna (Piaget, 1923;1936), ma soprattutto quella di creare e mantenere stimoli sociali durante le interazioni con la sua figura di accudimento (Stern, 1974; 1977). Il processo di maturazione delle competenze del neonato avviene solo a seguito dell’esperienza con il mondo esterno, e in particolare è sempre più condivisa l’idea che sia la qualità dell’esperienza in sé a modulare il percorso evolutivo (Imbasciati, 1998;2006).

Come sottolinea Beebe (2010), nella sfera sociale, inizia ad organizzarsi un mondo di rappresentazioni procedurali e pre-simboliche, formato attraverso processi interattivi di “sé-in-relazione-all’altro”, e dunque diadico. Attraverso la percezione delle corrispondenze tra il proprio comportamento e quello del partner comunicativo, organizzato in forme, tempo e intensità multimodali, sia il bambino che il partner possono o meno condividere uno stato affettivo. Tale visione delle rappresentazioni procedurali del bambino assume un potenziale per la riorganizzazione e la trasformazione: la rappresentazione non è qualcosa di statico che “abbiamo” ma qualcosa che si riorganizza in un particolare momento, in accordo con il contesto (Beebe & Lachmann, 2002; Sameroff, 1983).

1.6. La costruzione della relazione con il bambino *prima* della nascita: l’attaccamento prenatale

Come è stato presentato nei paragrafi precedenti, gli studi psicoanalitici hanno dato molta rilevanza al ruolo fondamentale delle prime relazioni tra genitori e bambini. Dal corpo di studi presentato, si evince come le ricerche abbiano evidenziato sin dai primi momenti di vita delle precise competenze percettive, motorie e comportamentali nei neonati, così come

una notevole propensione a coinvolgersi in una relazione con la figura di accudimento, apportando un proprio specifico contributo alla relazione (Stern, 1995; Fivaz-Depeursinge & Corboz-Warnery, 1999).

L'attenzione di questi studi si è concentrata principalmente sulle relazioni che si instaurano a partire dalla nascita, mentre sembrerebbe che il tipo di investimento affettivo che i genitori mostrano nei confronti del bambino nasca e si sviluppi già durante le fasi della gravidanza. Nella letteratura psicoanalitica si era delineata l'idea che la relazione di attaccamento neonatale potesse avere le sue origini in quell' "area di pensiero" che i futuri genitori investono nei confronti del nascituro. È Winnicott, nel 1958, proponendo il concetto di "preoccupazione materna primaria", il primo ad avanzare più chiaramente l'idea che la relazione tra il genitore e il bambino possa porre le proprie radici nelle fasi precedenti alla nascita. Tale costruzione della relazione, prima della nascita, è mediata e modulata dall'impegno affettivo che la mente del genitore sviluppa nei confronti del bambino atteso (Winnicott, 1958). O'Leary (2004) riporta frequenti episodi depressivi e intense reazioni di lutto in quei genitori che si trovano a vivere esperienze in cui la gravidanza viene interrotta con la conseguente perdita del bambino, evidenziando il cospicuo investimento emotivo ancor prima dell'instaurarsi di una relazione concreta con il bambino. Molto interessante, a tal proposito, divengono gli studi che si soffermano sulle fasi prenatali della costruzione di un'area intermedia tra fantasia e pensiero, rivolti al bambino atteso (Palacio Espasa, 1991; Soul, 1982; Lebovici, 1983). La complessa interconnessione di atteggiamenti, comportamenti, rappresentazioni cognitive e affettive e fantasie che si sviluppano nella mente del genitore nei confronti del feto, è stato definito, negli ultimi quarant'anni, con il termine di *attaccamento prenatale*. La Cranley (1981) definisce l'attaccamento prenatale come la costruzione del legame che i genitori sviluppano durante le fasi della gravidanza nei confronti del bambino che attendono. L'attaccamento prenatale può essere definito come "la misura in cui la donna manifesta comportamenti che rappresentano interazione e coinvolgimento affettivo verso il bambino che attende" (Cranley, 1981). Fonagy & Target (2001) hanno evidenziato come la qualità del legame che i genitori mostrano nei confronti del feto è condizionata dalle rappresentazioni mentali delle proprie prime relazioni, mostrando come i modelli operativi interni possano avere un'influenza anche sul tipo di legame di attaccamento che i genitori formeranno con il nascituro.

I processi psichici che hanno luogo nel corso della gravidanza sono assimilabili a quelli che si verificano in seguito a esperienze profondamente evolutive, in cui avvengono processi di elaborazione e di integrazione di parti di Sé passate (Bibring, 1959, 1961). In quest'ottica,

così come avviene in ogni momento di “crisi evolutiva” (*ibidem*), il cambiamento porta con sé una duplice connotazione di maturazione ma anche di vulnerabilità. E’ possibile, dunque, che per alcune donne, con maggiori difficoltà legate alla struttura della propria identità, il periodo della gravidanza divenga un momento di difficoltà con particolare ansia per il proprio corpo che cambia, per il feto e per il futuro rapporto con il bambino. La gravidanza è senz’altro un periodo di riflessione e soprattutto di rielaborazione delle esperienze passate con le proprie figure di accudimento, sia reali che fantasmatiche (Breen, 1992; Pines, 1972, 1980). Nel processo di individuazione di sé come madre e come donna, è riscontrabile una duplice esperienza che coinvolge sia il versante psichico sia quello somatico, e come riportato da Ammaniti e colleghi (1995) si può osservare nelle “oscillazioni identificatorie presenti in gravidanza, che si presentano nella donna come una tendenza da una parte a ripiegarsi su se stessa e a ritirarsi con il feto, e dall’altra a identificarsi con una madre sollecita che saprà prendersi cura del proprio bambino”. È proprio l’integrazione dei cambiamenti somatici e psichici, con la rielaborazione delle esperienze affettive passate che caratterizza le diverse fasi della gravidanza. Dall’accettazione dell’embrione e del feto, con la conseguente fusione nel proprio corpo, alla percezione dei movimenti fetali che gettano nuova consapevolezza della separazione che avverrà dopo il parto tra sé e quel futuro bambino, la donna attraversa repentini cambiamenti nell’immagine di sé che sono strettamente associati alle rappresentazioni delle proprie esperienze passate (Pines, 1972, 1982). Raphael-Leff (1983,1985) mette in luce diversi stili materni che caratterizzano le rappresentazioni, le aspettative e le fantasie in gravidanza sul futuro bambino, e che influenzeranno anche il rapporto iniziale tra la madre e il figlio.

Negli anni ’70 iniziarono i primi studi qualitativi sulle rappresentazioni e le fantasie delle donne in gravidanza. Lumley (1972) fu tra i primi a notare che con il progredire della gravidanza il feto viene sempre di più pensato come una persona, e che il legame di attaccamento con il feto viene stabilito molto precocemente. In uno studio longitudinale del 1977, Leifer indagò per la prima volta che un quarto del suo campione, costituito da giovani donne diciannovenni alla loro prima gravidanza, mostrava un basso investimento affettivo nei confronti del proprio futuro bambino. Le stesse donne, a distanza di sei mesi dal parto, continuavano a manifestare un basso legame di attaccamento verso il figlio. Sarebbe dunque che la qualità del legame di attaccamento prenatale possa essere rilevante rispetto alle successive interazioni madre-bambino. A partire dal secondo trimestre di gravidanza, le donne sembrerebbero avere una rappresentazione ben definita del bambino futuro, parlano con lui, si toccano la pancia alla ricerca di una “sintonizzazione affettiva” (Stern, 1988) che

può essere considerata il primo investimento affettivo dei genitori verso il figlio (Raphael-Leff, 1991).

Nell'ambiente uterino, via via che si sviluppano i sistemi sensoriali e percettivi e le strutture nervose deputate all'elaborazione affettiva e mnemonica, tipo l'ippocampo e l'amigdala, il feto non recepisce più solamente le sostanze nutritive e gli antigeni materni ma è anche in grado di percepire, attraverso risposte neuroendocrine, i vissuti emozionali della madre.

A partire dalle ricerche della Cranley (1981), sono iniziati a fiorire strumenti quantitativi per la misurazione del rapporto madre-feto che hanno permesso il progredire degli studi in questo campo (Condon, 1993; Muller, 1993). Studi longitudinali sull'attaccamento materno-fetale hanno evidenziato come, nel corso della gravidanza, le donne mostrino un andamento comune, in cui con il progredire della gravidanza, divengono via via più emotivamente legate ai loro futuri bambini (Laxton-Kane & Slade, 2002; Cannella, 2005). Indipendentemente dall'età materna, l'incremento dell'attaccamento verso il futuro bambino sembra essere associato alla percezione dei primi movimenti fetali (Heidrich & Cranley, 1989), evenienza che si verifica generalmente a partire dal secondo trimestre. L'età della madre non sembra avere un impatto sul livello di investimento affettivo (Bloom, 1995; Cannella, 2005), tuttavia uno studio ha riportato che le donne con un'età superiore ai 35 anni tendevano a mostrare un attaccamento verso il feto minore nel primo trimestre di gravidanza rispetto a donne più giovani (Berryman & Windridge, 1996). Tale risultato potrebbe essere interpretato alla luce del timore legato alla possibilità di perdere il bambino, possibilità che aumenta all'aumentare dell'età della madre.

Numerosi studi hanno riportato che le donne più sensibili ai movimenti fetale si mostrano anche maggiormente legate affettivamente al proprio feto (Heidrich & Cranley, 1989; Caccia et al., 1991). D'altronde, gli studi sullo sviluppo fetale mostrano che, a partire dal secondo trimestre di gravidanza, il feto è attivo e sensibile nei confronti degli stimoli ambientali interni ed esterni al corpo della madre (Piontelli, 1992; Della Vedova & Imbasciati, 1998; Della Vedova & Imbasciati, 2005).

1.6.1. L'attaccamento prenatale e i processi psicologici materni

Come ipotizzato dalle teorie psicoanalitiche, l'attaccamento materno prenatale non sembra essere direttamente dipendente esclusivamente dalla percezione fisica dei movimenti del feto, quanto piuttosto al coinvolgimento psicologico che inizia con il concepimento. Uno

studio di Caccia e colleghi (1991) ha mostrato che l'attaccamento al feto è presente già a dieci settimane di gestazione.

Le rappresentazioni e le fantasie della madre verso il futuro bambino sembrano affondare le loro radici nelle esperienze psicologiche della madre (Zeanah et al., 1986).

Attorno alla trentaseiesima settimana di gestazione, le future madri sviluppano una rappresentazione relativa al temperamento del nascituro basandosi sulle proprie emozioni e fantasie (Lumley, 1982; Perry, 1983; Vaughn et al., 1987; Zeanah & Barton, 1989). È interessante notare che la presenza di fattori di rischio durante la gravidanza, come patologie o diabete gestazionale, non sembra avere un impatto significativo sull'investimento affettivo nei confronti del feto (Laxton-Kane, Slade, 2002). Naturalmente, l'investimento verso il feto si differenzia tra le donne in gravidanza ma sembra essere, in ogni caso, predittivo della relazione madre-bambino anche dopo la nascita (Siddiqui et al., 2000; Quinlivan & Evans, 2005).

I fattori psicologici materni giocano un ruolo chiave nell'instaurarsi del legame di attaccamento prenatale. I sintomi depressivi della madre sembrano essere associati ad un basso attaccamento materno-fetale, che influenzerà il successivo legame anche dopo la nascita (Daglar & Nur, 2018; Mercer et al., 1988; Condon & Corkindale, 1997). Un basso attaccamento materno-fetale è associato con un più basso livello di comportamenti salutari durante la gravidanza, un maggiore uso di nicotina e alcol, una maggiore irritabilità, maggiore rischio di nuocere al feto (Lindgren, 2003; Pollock & Percy, 1999), un aumento dello stress postpartum (Mazzeschi et al., 2015), un ridotto legame madre-bambino (Dubber et al., 2015; Müller, 1996; van Bussel et al., 2010) così come maggiori difficoltà nella relazione tra madre e bambino, difficoltà nel temperamento del bambino e maggiori problemi di adattamento (Branjerdporn et al., 2017; Siddiqui and Häggelöf, 2000; Thun-Hohenstein et al., 2008). Inoltre, uno studio recente ha mostrato che la consapevolezza e la metacognizione dei movimenti fetali sono associati con una maggiore età gestazionale, un maggiore attaccamento prenatale e con minori livelli di ansia prenatale (Kantrowitz-Gordon, Cunningham, & Reynolds, 2019; Goebel et al., 2018). In uno studio condotto su donne gestanti provenienti da situazioni sociali svantaggiate, Pollock e colleghi (1999) hanno riportato che uno stile di attaccamento preoccupato e la presenza di un disturbo di personalità istrionico, borderline o paranoide nella madre erano associati con un maggiore preoccupazione negativa nell'attaccamento verso il feto; mentre la presenza di un disturbo di personalità narcisistico, antisociale o con tratti sadici-aggressivi era associata con un disinteresse nei confronti della relazione con il feto. È clinicamente rilevante il fatto che le

madri che riportavano una preoccupazione negativa verso il feto affermavano di provare frustrazione e rabbia verso il nascituro, ammettevano il desiderio di volerlo punire e sentivano che avrebbero potuto perdere spesso il controllo con il bambino una volta nato. Tale preoccupazione e il rischio di nuocere al bambino non erano presenti nel gruppo di gestanti che riportava disinteresse nei confronti dell'attaccamento con il feto (Pollock et al., 1999). Recenti studi confermano che lo stile di attaccamento materno di tipo ansioso è negativamente associato all'attaccamento prenatale, e tale associazione predice elevati livelli di stress genitoriale a tre (Mazzeschi et al., 2015) e a dodici mesi dopo la nascita (Moe et al., 2018; Trillingsgaard et al., 2011). E' probabile che le madri che presentano un attaccamento prenatale più sicuro siano maggiormente in grado di far fronte ai cambiamenti della gravidanza e alle sfide del divenire genitori rispetto, diminuendo i livelli di stress genitoriale nel periodo perinatale (Moe et al., 2018).

Alcune ricerche precedenti hanno mostrato che il sostegno affettivo e sociale percepito sono fortemente associati con l'attaccamento materno-fetale (Cranley, 1981; Condon & Corkindale, 1997). In particolare, la possibilità di fare affidamento su un legame stabile con la propria madre e su un clima familiare empatico è associata con la possibilità della gestante di sviluppare un maggiore attaccamento verso il feto (Fuller e al. 1993; Wilson et al. 2000; Wayland & Tate, 1993; Bloom, 1995). Inoltre, sembra che un buon livello di adattamento nella relazione con il proprio partner sia predittivo di un maggiore attaccamento prenatale materno (Nieto, Lara, & Navarrete, 2017).

I risultati di questi studi mostrano come il complesso equilibrio tra le variabili psicologiche e ambientali giochi un ruolo fondamentale a tutela della costruzione di un legame tra madre e bambino che è in divenire.

Considerato che l'attaccamento prenatale è strettamente legato alla capacità della madre di sintonizzarsi emotivamente con il feto, di avere fantasie, pensieri e una propria rappresentazione anticipata del futuro bambino è interessante soffermarsi sul rapporto tra l'attaccamento con il feto e l'alessitimia. Con il termine "alessitimia" (Sifneos, 1973), letteralmente "assenza di parole per esprimere emozioni", ci si riferisce al funzionamento mentale caratterizzato da una mancanza di capacità nell'elaborare, rappresentare ed esprimere gli stati emotivi dell'individuo, che a sua volta influenza la regolazione affettiva e la qualità dell'esperienza interpersonale (*ibidem*). Elevati livelli di alessitimia sembrano essere correlati a diverse difficoltà psicologiche, psichiatriche, psicosomatiche, sessuali e riproduttive, nonché a scarse capacità interpersonali e ad uno stile di attaccamento insicuro

(Lamas et al., 2006). Inoltre, l'alessitimia risulta positivamente associata con i sintomi depressivi durante il periodo perinatale (Le et al., 2007). In uno studio di Della Vedova e colleghi (2008) viene riportata un'associazione negativa tra l'attaccamento al feto e i livelli di alessitimia, in particolare con la dimensione dell'alessitimia "pensiero orientato all'esterno" che fa riferimento alla concretezza del ragionamento, fattore considerato come predittore di una relazione madre-bambino estremamente povera (Marty & d'Uzan, 1962). Considerando che l'attaccamento prenatale sembra riguardare il grado di investimento affettivo della madre nei confronti del proprio figlio, anziché semplicemente la capacità di rappresentare il futuro bambino, tale costrutto è strettamente interconnesso anche con la flessibilità mentale, l'empatia e la sensibilità materna (Della Vedova et al., 2008). L'associazione negativa tra alessitimia e attaccamento al feto è coerente anche con altre ricerche che sottolineano come l'alessitimia sia correlata ad un attaccamento insicuro (Wearden et al., 2003; Montebanocci et al., 2004).

Infine, la qualità dell'attaccamento prenatale risulta essere associata allo sviluppo di depressione post-partum. Nello specifico, Goecke e colleghi (2012) riportano che, in un campione di donne primipare, un maggiore legame con il futuro bambino risultava negativamente associato con la presenza di sintomi depressivi sia al termine della gravidanza sia sei mesi dopo il parto. Sembra dunque, che una maggiore intensità e qualità nel legame tra la madre e il futuro bambino siano un fattore di protezione sia per lo sviluppo di successive difficoltà psicologiche della madre, sia per l'instaurarsi di una relazione madre-bambino più sicura.

1.7. La costruzione della relazione con il bambino *dopo* la nascita: le prime interazioni e l'allattamento

Nell'immediato periodo dopo la nascita, si svilupperebbe un profondo legame affettivo tra la madre e il bambino, facilitato dalla vicinanza fisica, che per la prima volta è stato definito come "bonding materno" da Kennell e Klaus (1976;1984). Naturalmente, l'allattamento, fornendo vicinanza fisica, nutrimento e gratificazione è stato a lungo considerato come il comportamento che facilita la costruzione di tale legame. L'allattamento è una caratteristica definitoria di tutti i mammiferi e, nello specifico, negli umani è stato associato ad un miglioramento nella salute della madre (Labbok, 2001) e ad una migliore salute e sviluppo del bambino (Anderson, Johnstone, & Remley, 1999; Caspi et al., 2007; Hanson, 1998). La relazione madre-bambino, che si consolida durante l'allattamento, può essere immaginata

come costituita da due aspetti complementari: il legame materno, o il legame della madre verso il suo bambino, e l'attaccamento del bambino, definito come il legame del bambino verso il suo caregiver (Jansen, de Weerth, & Riksen-Walraven, 2008). Mentre, come abbiamo visto nei paragrafi precedenti, l'attaccamento del bambino verso la madre fa riferimento a un sistema comportamentale ben definito che promuove la prossimità tra la madre e il bambino, l'attaccamento della madre verso il bambino è meno chiaro. Riprendendo il concetto di Kennell e Klaus (1976) di "bonding materno", definito come un investimento emotivo nei confronti del bambino motivato da spinte biologiche, recenti studi hanno considerato tale legame come complementare all'attaccamento del bambino, assicurando la vicinanza della madre al proprio figlio (Maestripieri, 2001a;2011b). Tale legame sembrerebbe essere diretto ad uno specifico bambino (Kendrick et al., 1997; Keverne, 2006) ed essere caratterizzato da espressioni e comportamenti materni specifici (Levine, Zagoory-Sharon, Feldman, & Weller, 2007). Kennell e Klaus proposero che una madre sia biologicamente predisposta a formare un legame emotivo duraturo con il proprio figlio, e, inoltre, ipotizzarono, come parte essenziale della loro teoria, l'esistenza di un periodo critico entro il quale tale legame possa formarsi (Jansen, de Weerth, & Riksen-Walraven, 2008; Kennell & Klaus, 1976). Proprio l'esistenza di un periodo critico per la formazione di tale legame fu aspramente criticata negli anni successivi, per l'eccessiva omologazione tra quanto accade negli animali non-umani, in cui è stata ben dimostrata l'esistenza di tale periodo sensibile, per la metodologia utilizzata e per la sovrastima della permanenza degli effetti di tale legame (Lamb, 1982; Korsch, 1983; Lamb, 1983a, 1983b; Sugarman & Goldberg, 1983). Negli anni a seguire, soprattutto negli anni '80, le ricerche sul legame tra le madri e i neonati sono "stati abbandonate dalla maggior parte comunità scientifica" (Eyer, 1992). Nonostante ciò, negli anni successivi emerse sempre più chiaramente la consapevolezza che i legami sociali promuovano la sopravvivenza (Carter & Keverne, 2002; Miller, Feldman e Pasta, 2002), e che le cure materne, fornendo protezione e nutrimento, consentono un periodo di sviluppo (cerebrale) più lungo; tale consapevolezza portò la ricerca sul legame materno e i fattori che influenzano il suo sviluppo nuovamente al centro dell'interesse scientifico (ad es., Feldman, Weller, Leckman, Kuint e Eidelman, 1999; Leckman et al., 2004). Tuttavia, a differenza degli studi sul legame materno degli anni '70, Feldman e colleghi (1999) concentrano la loro ricerca su "un insieme chiaramente definito di comportamenti materni post-partum che emergono o si intensificano durante la fase del legame" (Levine et al., 2007) e più chiaramente teorizzarono e studiarono le basi

biologiche del legame materno (ad es. Leckman et al., 1999; Leckman et al., 2004; Levine et al., 2007).

Come mostrato da Corter e Fleming (2002), la motivazione materna prima della nascita al legame verso il futuro bambino non è sperimentata da tutte le madri. Feldman et al. (1999) forniscono prove del fatto che la formazione del legame materno preparto può essere ostacolata da una perdita imminente e Leckman et al. (1999) hanno scoperto che alcuni aspetti del legame materno (nello specifico la preoccupazione materna) si intensificano dopo la nascita per diminuire dopo 3 mesi. Uno studio di risonanza magnetica funzionale (fMRI), condotto da Swain e colleghi (2004), supporta i risultati di Leckman e colleghi: nelle madri primipare la risposta cerebrale al pianto infantile cambia nel tempo. La risposta cerebrale riconducibile ad un segnale di allarme diminuisce durante i primi mesi post partum, ma viene sostituita da una risposta che indica un maggior grado di impegno sociale, suggerendo che, anziché indebolirsi dopo tre mesi, il legame materno si sviluppa e cambia nella forma (Swain et al., 2004).

Uno dei fattori che è stato maggiormente indagato nella costruzione e nel rinforzo del legame materno è senza dubbio l'allattamento al seno (ad es. Jansen, de Weerth, & Riksen-Walraven, 2008). Studi su modelli animali hanno mostrato che l'allattamento influisce sul comportamento delle cure materne e sul legame della coppia madre-cucciolo. Principalmente, sono duplici i fattori attraverso i quali l'allattamento può influire sull'attaccamento madre-bambino: gli effetti prodotti dall'azione degli ormoni coinvolti nell'allattamento al seno e gli effetti di aspetti non nutritivi associati allo scambio affettivo che avviene nell'interazione tra madre e bambino durante l'allattamento.

L'allattamento al seno influenza il sistema endocrino della madre (per una trattazione più approfondita, vedi Buhimschi, 2004). In particolare, i due ormoni più coinvolti in questo processo sono l'ossitocina (OT) e la prolattina (PRL). L'OT, piccolo ormone peptidico viene rilasciata con frequenza pulsante in risposta alla suzione del neonato e stimola la contrazione delle cellule muscolari lisce e il rilascio di latte dalla ghiandola mammaria (Nissen et al., 1996; Ueda, Yokoyama, Irahara e Aono, 1994, Uvnäs-Moberg, 1998). La PRL stimola la secrezione di latte nel tessuto mammario (Neville, McFadden e Forsyth, 2002) e viene rilasciata dopo l'allattamento (Johnston e Amico, 1986). La risposta endocrina all'allattamento al seno serve principalmente a sostenere la produzione di latte, ma gli studi sui modelli animali ha dimostrato che può svolgere un ruolo essenziale nel promuovere il legame materno.

Kendrick (2000) ha esaminato gli effetti dell'OT sul comportamento di cura materna negli animali e ha suggerito che l'OT attivi sia i comportamenti benefici per la sopravvivenza della prole sia sopprime i comportamenti che potrebbero danneggiare i cuccioli. Nei mammiferi non primati, ci sono evidenze che suggeriscono che l'OT induca l'insorgenza del comportamento di *caregiving* materno nelle femmine indotte per via ormonale. Le femmine di ratto (Pedersen et al., 1994) e le pecore (Da Costa et al., 1996; Kendrick, Keverne e Baldwin, 1987) possono essere indotte a mostrare un comportamento di cura materna a seguito di una somministrazione di OT intracerebroventricolare, mentre un'iniezione di antagonisti dell'OT nei ratti, poco dopo il parto, compromette l'insorgenza del comportamento di *caregiving* materno (Van Leengoed, Kerker e Swanson, 1987). Inoltre, sebbene l'OT non sia essenziale affinché si verifichi un comportamento di cure materne dopo la sua insorgenza (Insel, 1997; Pedersen, 1997), la quantità di comportamenti di *caregiving* (leccare e pulire i cuccioli) nei ratti è influenzata positivamente dai livelli post-partum di OT (Champagne et al., 2001; Francis, Champagne, & Meaney, 2000). Pertanto, sembra che l'OT induca l'insorgenza del comportamento di cura da parte della madre nei ratti e negli ovini e, dopo la sua insorgenza, alcune forme di comportamento di *caregiving* possano continuare a essere influenzate dai livelli di OT. Nei primati non umani, gli studi suggeriscono che l'OT faciliti il comportamento di *caregiving* materno (Boccia et al., 2005; Holman & Goy, 1995). Uno studio preliminare di Boccia e colleghi (2007) indica che la somministrazione di un antagonista dell'OT riduce il comportamento materno in scimmie *rhesus* femmine nullipare, fornendo ulteriore supporto a questa ipotesi. Pedersen (2004), tuttavia, suggerisce che nei primati, il comportamento di *caregiving* materno è meno determinato dal controllo ormonale, mentre invece sembrerebbe acquisito principalmente attraverso l'apprendimento precoce e l'esperienza sociale. Questo suggerimento è in linea con i risultati ben riassunti in una review di Insel (2003), dove viene esposta l'idea che l'OT abbia un ruolo nell'associare segnali sociali esterni con le strutture cerebrali coinvolte nella motivazione e nella ricompensa, anziché nell'attivare direttamente il comportamento materno. Come già precedentemente suggerito da Panksepp, Nelson e Siviy (1994), il legame materno potrebbe, dunque, essere il risultato della motivazione e della gratificazione associate al mettere in atto i comportamenti di cura materna.

Senza dubbio, oltre agli effetti (neuroendocrini) dell'allattamento al seno che possono favorire il comportamento del *caregiving* materno e della formazione del legame, aspetti non nutritivi dell'allattamento possono favorire l'attaccamento del bambino. L'allattamento al seno consente alla madre di sapere cosa stia facendo il suo bambino attraverso un feedback

sensoriale diretto, promuovendo potenzialmente l'attaccamento attraverso una migliore sintonia delle interazioni madre-bambino durante l'alimentazione (Jansen, de Weerth, & Riksen-Walraven, 2008). Un importante predittore del successivo attaccamento bambino-madre è, infatti, la sensibilità della madre verso i comportamenti del proprio bambino (De Wolff & Van IJzendoorn, 1997; Nieuvar & Becker, 2008; Van den Boom, 1994). La formazione di un attaccamento sicuro è stimolata da una risposta sensibile e coerente ai segnali del bambino (ad es. Beebe, 2005). Mentre l'allattamento al seno può offrire al bambino stimoli visivi, tattili e olfattivi distinti, può anche influenzare il comportamento generale della madre durante l'alimentazione, rendendo così il momento dell'allattamento un'occasione di intenso scambio interattivo tra madre e bambino. La sintonizzazione, definita come il mutuo adattamento degli stati emotivi e attentivi, può essere considerata un elemento chiave della sensibilità materna e, come tale, è stato ampiamente riportato che la sintonizzazione contribuisce alla successiva sicurezza dell'attaccamento (Feldman, 2007; Jaffe et al., 2001; Schore, 2000, 2001a, 2001b; Siegel, 2001). Correlazioni tra sincronia delle interazioni, definita come la misura in cui un'interazione è reciproca e reciprocamente gratificante, e successivamente la sicurezza dell'attaccamento sono state trovate quando l'interazione madre-bambino è stata osservata già a un mese di età (Isabella & Belsky, 1991; Isabella, Belsky, e von Eye, 1989). Oltre a favorire potenzialmente la sensibilità materna e la sintonia madre-bambino, l'allattamento al seno ha dimostrato di influenzare positivamente l'emozione materna (per un approfondimento, vedi Mezzacappa, 2005). Ad esempio, l'allattamento al seno sembra aumentare la soddisfazione materna (Kavanaugh et al., 1997) e ridurre l'umore negativo della madre (Mezzacappa & Katkin, 2002; Heinrichs et al., 2001). Questi dati sono supportati da osservazioni a livello fisiologico: le madri sembrano avere una risposta allo stress, sia fisico sia psicologico, attenuata subito dopo l'allattamento (Altemus et al., 1995; Amico, Johnston, & Vagnucci, 1994; Heinrichs et al., 2001). Altri esperimenti suggeriscono che il rilascio di OT, che come abbiamo visto si verifica durante l'allattamento al seno, sia associato al desiderio di compiacere e interagire socialmente (Nissen et al., 1998; Uvnäs-Moberg et al., 1990; Uvnäs-Moberg, 1996). È interessante notare che la quantità di latte somministrata al bambino durante l'allattamento era anch'essa correlata a questo desiderio di socializzazione (Uvnäs-Moberg, 1997).

È interessante notare, tuttavia, che in uno studio condotto su madri che allattavano esclusivamente al seno o con il biberon, Martone e Nash (1988) non hanno trovato alcuna relazione tra il metodo di alimentazione e il comportamento affettivo materno durante un'interazione di alimentazione a due giorni dopo il parto. Potrebbe essere che l'assenza di

differenza tra i tipi di alimentazione fosse dovuta al tempo troppo breve di osservazione, per cui se l'allattamento al seno influisce sulla formazione del legame, ci si dovrebbero aspettare differenze dopo un periodo più lungo. Uno studio longitudinale, condotto su madri che allattavano al seno e madri che utilizzavano il biberon, riporta che a 4 mesi dopo il parto, le madri che allattavano al seno hanno mostrato una tendenza debole e non significativa a rispondere con un punteggio inferiore sulla scala dell'attaccamento materno rispetto alle madri che allattavano con il biberon, indicando un legame migliore, mentre a 12 mesi non erano più presenti trend diversi tra i due tipi di alimentazione (Else-Quest et al., 2003).

Come discusso in precedenza, un effetto dell'allattamento al seno sulla relazione madre-bambino non deve necessariamente essere un effetto diretto, ma può essere mediato da altri fattori. Sebbene non trovino risultati significativi nel loro campione, Britton e colleghi (2006) suggeriscono che un effetto dell'allattamento al seno sull'attaccamento potrebbe essere mediato da variazioni nella sensibilità materna. Allo stesso modo, l'umore materno può influenzare qualsiasi interazione madre-bambino e può quindi avere un effetto sull'attaccamento o sul legame materno in seguito (Jansen, de Weerth, & Riksen-Walraven, 2008).

1.8. Il ruolo del padre

Dai paragrafi precedenti, appare evidente che sia stata posta particolare attenzione alla relazione tra la madre e il suo bambino, tralasciando quasi del tutto la figura paterna. Sicuramente, vista la complessità intrinseca nello studiare le diverse dimensioni della relazione tra un genitore e il proprio figlio, è stato più semplice, in un certo senso, indagare la relazione madre-bambino, come primo punto di osservazione. Tuttavia, è innegabile che la presenza di una figura alternativa alla madre, nello specifico di una figura maschile, giochi un ruolo importante nella sicurezza e nella salute psichica della nuova diade madre-bambino. Negli ultimi dieci anni, si è incrementato il numero di studi che ha diretto l'interesse nei confronti della figura paterna, sottolineando come sia direttamente (instaurando un rapporto prima col feto poi col neonato) sia indirettamente (tramite il supporto alla compagna) la sua presenza sia fondamentale. Lwanga e colleghi (2017) hanno indagato la percezione e l'esperienza del parto negli uomini, focalizzandosi sui sentimenti relativi alla partecipazione alla nascita, al senso di responsabilità e alle esperienze negative e positive durante il parto. Da questo studio è emerso che la partecipazione attiva del padre sembra essere indicativa di un legame più stretto tra i partner, e che tale coinvolgimento abbia favorito un'esperienza di

nascita più tranquilla e con minore percezione di stress nella madre. Inoltre, è emerso che la partecipazione paterna durante il parto e l'accudimento della donna in travaglio sono associati con un più forte legame d'attaccamento del padre con il neonato.

Le madri, avendo l'opportunità di percepire la presenza del feto anche durante la gravidanza, attraverso i movimenti del bambino, sembrano facilitate nello sviluppo di una connessione emotiva con il feto. In un interessante studio (Seimyr, et al. 2009) viene confrontato l'attaccamento al feto della madre con quello del padre; da tale comparazione si è notato come esista una relazione positiva tra l'attaccamento verso il feto dei futuri genitori. Seimyr e colleghi (2009) mettono in luce come la vicinanza materna sembri essere associata ad una percezione interna del feto che porterebbe la futura madre, ad esempio, a mettere in atto comportamenti salutari; mentre invece l'investimento affettivo dei padri sembra essere maggiormente focalizzato sulla nascita e sulle esperienze che potranno vivere con il futuro bambino. Le aspettative paterne sul proprio ruolo futuro, e sul proprio comportamento anche durante la gravidanza (ad esempio, interagendo con il feto attraverso la pancia), sembrano giocare un ruolo importante nella percezione delle donne di poter contare su di un supporto stabile, percezione che sembra incrementare l'attaccamento materno stesso verso il feto.

Come accade per le madri, l'esperienza della nascita di un figlio può determinare nel padre sentimenti di ansia, paura, angoscia e stress relativi alla salute e alla sicurezza della nuova famiglia che si sta formando (Gawlik et al., 2014; Kerstis et al., 2013; Paulson et al., 2016). Pérez e colleghi (2017) hanno messo in luce come la depressione paterna sia spesso positivamente associata con quella materna, con conseguenze negative sullo sviluppo psicosociale del bambino. A differenza di quanto avviene per la depressione post-partum materna, che si sviluppa più precocemente, l'incidenza della sintomatologia nei neo-padri è tra il terzo e il sesto mese dopo il parto. Tra i fattori di rischio per lo sviluppo della depressione post-partum paterna sembrano esserci: una pregressa storia di depressione, un rapporto insoddisfacente con il partner, la depressione post-partum della compagna, la disoccupazione, una bassa scolarità e una bassa percezione di supporto sociale da parte di amici e parenti (Pérez et al., 2017). Sembrerebbe che la presenza di sintomatologia depressiva in entrambi i genitori porti a percepire in maniera peggiore il temperamento dei figli, con conseguente minore interazione con essi, che presentano un pianto prolungato e difficoltà nell'alimentazione, nello sviluppo del ciclo sonno-veglia e nelle abilità socio-emozionali (*Ibidem*).

Capitolo II

Il complesso rapporto tra geni e ambiente

L'eredità e l'ambiente di un organismo possono essere completamente separati solo nel pensiero analitico, poiché nella natura reale, tale la separazione porterebbe alla morte istantanea dell'organismo, anche se il filosofo che ha fatto l'analisi potrebbe sopravvivere.
(Gesell & Thompson, 1934, p. 293)

Come riportato nel capitolo precedente, la ricerca sul rapporto tra genitore e bambino è stato il fulcro di molteplici sforzi in psicologia, soprattutto per cercare di comprendere gli effetti delle cure genitoriali sui processi di affettivi e di socializzazione. Nelle ultime tre decadi, tuttavia, la ricerca focalizzata sull'influenza delle cure parentali si è trovata ad affrontare nuove sfide (Collins et al.,2000). La prima osservazione che ha dovuto fronteggiare questo tipo di ricerca è stata la scarsità di prove convincenti circa la continuità nel tempo dell'influenza delle cure genitoriali sul comportamento e sulla personalità fino all'età adulta (Harris, 1995, 1998; Rowe, 1994). L'altra critica che veniva mossa a questi studi riguardava l'aver trascurato, oltre le cure genitoriali *stricto sensu*, l'azione di altri fattori. Tra le fonti più comunemente citate di influenze alternative sul comportamento del bambino, vi erano delle forze ambientali concorrenti più generali (ad es. Lewis, 1997) e quella che, senza dubbio, ha suscitato maggiore interesse, l'ereditarietà (Harris, 1995, 1998; Rowe, 1994). Negli ultimi dieci anni, l'interesse per gli studi che riguardano il rapporto tra l'ereditarietà genetica e l'ambiente (GxE) è aumentato in modo esponenziale nella ricerca sperimentale. Una simile esplosione di interesse può, in parte, riflettere una fusione di interessi da campi tradizionalmente in contrasto tra loro. Storicamente, c'era la percezione che i genetisti comportamentali si concentrassero sulle influenze genetiche sul comportamento, sacrificando lo studio delle influenze ambientali, e che gli psicologi dello sviluppo si concentrassero sulle influenze ambientali e ignorassero in gran parte i fattori genetici. Sebbene questa critica non sia interamente fondata da nessuno dei due campi, le differenze metodologiche e ideologiche tra questi rispettivi campi di indagine hanno fatto sì che le

influenze genetiche e ambientali fossero state tradizionalmente studiate indipendentemente l'una dall'altra.

Più recentemente, è stato riconosciuto da entrambi questi campi che le influenze genetiche e ambientali sono componenti critiche per il risultato dello sviluppo e che è molto più fruttuoso tentare di capire come questi fattori si uniscono per influenzare i risultati psicologici piuttosto che discutere su quale sia più importante (Dick, 2011).

Come sostenuto più di tre decenni fa da Kendler ed Eaves (1986), nel loro articolo sull'effetto congiunto di geni e ambiente:

“è nostra convinzione che una completa comprensione dell'eziologia della maggior parte dei disturbi psichiatrici richiederà una comprensione dei pertinenti fattori di rischio genetico, i pertinenti fattori di rischio ambientale e i modi in cui questi due fattori di rischio interagiscono. Tale comprensione deriverà solo dalla ricerca in cui le importanti variabili ambientali sono misurate in un progetto geneticamente informativo. Tale ricerca richiederà una sintesi di tradizioni di ricerca all'interno della psichiatria che sono state spesso in contrasto tra loro in passato. Questa interazione tra la tradizione di ricerca che si è concentrata sull'eziologia genetica della malattia psichiatrica e quella che ha enfatizzato la causalità ambientale sarà senza dubbio a beneficio di entrambi” (Kendler & Eaves 1986, p. 288).

Nel corso di questi anni, sono stati principalmente due i metodi utilizzati per rilevare l'interazione gene-ambiente negli studi sugli animali e sull'uomo. Il primo riguarda lo studio dell'interazione latente gene-ambiente, in cui non vengono misurati genotipi specifici, ma si deduce piuttosto l'influenza genetica sulla base di correlazioni osservate tra campioni di persone con diversi gradi di condivisione genetica e ambientale. Pertanto, questa tipologia di studi sull'interazione gene-ambiente esamina gli effetti aggregati e generali dei geni, piuttosto che uno specifico gene target. Gli studi genetici molecolari, al contrario, si concentrano generalmente su uno specifico gene di interesse, che la letteratura scientifica a ritrovato essere associato a particolari condizioni psicologiche e cliniche (Dick, 2011).

2.1. La differenza tra “interazione gene-ambiente” e “correlazione gene-ambiente”

Innanzitutto, è importante definire alcuni aspetti della terminologia che riguarda lo studio dell'interazione gene-ambiente. In termini comuni, il termine “interazione gene-ambiente” è spesso usato per indicare che sia i geni che gli ambienti sono importanti. In termini statistici, tuttavia, un'interazione è una cosa molto specifica e si riferisce ad una circostanza in cui

l'effetto di una variabile non può essere compreso senza tener conto dell'altra variabile. I loro effetti non sono indipendenti e non sono semplicemente effetti principali di una delle due variabili considerate (geni o ambiente). Quando ci riferiamo all'interazione gene-ambiente in senso statistico, ci riferiamo a una situazione in cui l'effetto dei geni dipende dall'ambiente e / o l'effetto dell'ambiente dipende dal genotipo, e queste due concettualizzazioni alternative dell'interazione gene-ambiente sono statisticamente indistinguibili. Inoltre, è bene sottolineare che le influenze reciproche dei geni sull'ambiente e viceversa non sono necessariamente fattori indipendenti tra loro (Kendler et al., 1993). Questo fenomeno prende il nome di correlazione gene-ambiente (Kendler, 2011).

Alla fine degli anni '80, sono stati delineati tre modi specifici in cui i geni possono esercitare un effetto sull'ambiente (Plomin et al., 1977, Scarr & McCartney, 1983):

- (1) il fatto che tra parenti biologicamente correlati (famiglie non adottive), i genitori forniscano ai propri figli, oltre al genotipo, anche l'ambiente di crescita prende il nome di "correlazione genetica passiva-ambientale", in cui genotipo e ambiente familiare del bambino sono tra loro correlati;
- (2) l'idea che i genotipi degli individui influenzino le risposte che ricevono dagli altri viene definita "correlazione evocativa gene-ambiente". In questa concezione, ad esempio, un individuo con determinate caratteristiche genetiche manifesta un fenotipo che influenzerà il modo in cui quell'individuo vivrà il proprio ambiente;
- (3) infine, il fatto che, influenzato dal proprio genotipo, un individuo selezioni attivamente determinati ambienti e faccia esperienze diverse a seconda del contesto che ha scelto viene definito "correlazione gene-ambiente attiva".

Sembra, dunque, importante sottolineare che spesso le influenze genetiche e ambientali non rappresentano fonti indipendenti di influenze (Kendler & Baker 2007), e ciò rende anche difficile determinare se i geni o l'ambiente siano l'agente causale. Un esempio per esplicitare questa dipendenza tra geni e ambiente potrebbe essere quello di individui geneticamente predisposti alla ricerca di sensazioni intense che si potrebbero ritrovare più facilmente a cercare ambienti che metterebbero a rischio la loro salute (come ad esempio, la ricerca di sostanze d'abuso). In tal caso, sono i geni predisponenti alla ricerca di sensazioni o l'ambiente in cui reperire facilmente le sostanze d'abuso l'agente causale? La domanda, in realtà, non è di così semplice risoluzione: entrambi hanno avuto un ruolo, ma, anziché porre la domanda in questi termini, domandandosi se i geni o l'ambiente fossero il fattore critico, è molto più esaustivo chiedersi quali siano stati i percorsi che abbiano portato al rischio. È bene ricordare che, come abbiamo visto, l'interazione geni-ambiente, in senso statistico, è

solo uno dei processi attraverso cui si intrecciano le influenze genetiche e ambientali (Dick, 2011). Shanahan e Hofer (2005) hanno suggerito quattro diversi processi attraverso i quali il contesto sociale può moderare l'importanza relativa degli effetti genetici: l'ambiente può (a) innescare o (b) compensare una predisposizione genetica, (c) controllare l'espressione di una predisposizione genetica o (d) aumentare in positivo le conseguenze una predisposizione genetica (riferendosi all'accentuazione di predisposizioni genetiche “favorevoli”). Come vedremo più avanti, questi processi non sono mutualmente escludentisi e possono rappresentare diverse estremità di un continuum.

2.1.2. Come possiamo indagare l'interazione gene-ambiente?

Sia per quanto riguarda le indagini dell'interazione latente gene-ambiente sia quelle molecolari, probabilmente, la sperimentazione animale fornisce il metodo di osservazione più semplice: essa può essere testata direttamente in animali selezionati per avere diversi ceppi genetici che possono essere sottoposti a diversi ambienti (Dick, 2011). Il vantaggio principale degli studi sugli animali è che l'esposizione ambientale può essere controllata, attribuendola in modo randomizzato a gruppi di animali con specifici genotipi, eliminando in tal modo la correlazione gene-ambiente e le relative difficoltà interpretative. L'esempio più largamente citato in questo tipo di esperimenti è quello condotto da Cooper e Zubek del 1958, in cui i ratti sono stati allevati selettivamente per avere delle *performance* differenti in un labirinto sperimentale (Cooper & Zubek 1958). Tenendo le condizioni ambientali identiche nel labirinto, un gruppo di ratti commetteva costantemente pochi errori, mentre il secondo gruppo ne commetteva molti. Successivamente, questi ratti selezionati sono stati esposti a varie condizioni ambientali: una condizione “arricchita”, in cui i ratti erano posti in gabbie dai colori vivaci con molti oggetti mobili, o una condizione di “deprivazione”, in cui non c'erano colori o giocattoli. La condizione arricchita non ha avuto alcun effetto sui topi con basso numero di errori nel labirinto, ma ha significativamente migliorato le prestazioni dei topi con alto numero di errori nel labirinto, a tal punto che non era più rilevabile alcuna differenza tra i due gruppi. Al contrario, l'ambiente deprivato non ha influenzato le prestazioni dei topi con molti errori nel labirinto, ma ha sostanzialmente diminuito le prestazioni dei topi che commettevano pochi errori nel labirinto, appiattendone anche in questo caso la differenza tra i gruppi e dimostrando una potente interazione gene-ambiente (*Ibidem*).

Seppur presentando diverse limitazioni, questa tipologia di studi ha gettato le basi per molti studi successivi, suggerendo ampiamente che la variazione ambientale può avere un notevole impatto differenziale sull'*outcome* comportamentale, a seconda della composizione genetica dell'animale (Wahlsten et al., 2003).

Nell'ambito degli studi condotti sugli esseri umani l'indagine latente dell'interazione gene-ambiente ha utilizzato tradizionalmente tre disegni di ricerca per dimostrare l'influenza genetica sul comportamento: studi familiari (Gottesman 1991; Cannon et al., 1993; Sherman et al., 1997; Malaspina et al., 1999, Moldin & Gottesman 1997), studi sulle adozioni (Cadoret et al., 1990; Martin et al., 1997; Leve et al., 2010; McGue et al., 1995, 1996) e studi sui gemelli (Bergeman et al., 1988; McGue & Bouchard 1998; Rose et al., 2001; Dick et al., 2001; Button et al., 2007; Feinberg et al., 2007; Boardman et al., 2010).

Tuttavia, nell'ambito della presente trattazione sono le analisi di interazione gene-ambiente condotte a livello molecolare ad essere più interessanti. I recenti progressi hanno reso la raccolta di acido desossiribonucleico (DNA) e la conseguente genotipizzazione relativamente economica e semplice.

A partire dagli studi pubblicati da Caspi e colleghi (2002; 2003), si sono estese le ricerche nel campo molecolare dell'interazione gene-ambiente a partire dalla presenza o meno di polimorfismi in specifici geni. Caspi e colleghi (2002; 2003) hanno riportato, in un campione longitudinale prospettico, seguito dalla nascita fino all'età adulta, che un polimorfismo funzionale nel gene che codifica per l'enzima metabolizzante i neurotrasmettitori monoaminossidasi A (MAOA) sembrava avere un ruolo di moderazione dell'effetto del maltrattamento: i maschi portatori del genotipo che conferiva alti livelli di espressione di MAOA avevano meno probabilità di sviluppare problemi antisociali se esposto a maltrattamenti (Caspi et al., 2002). Queste evidenze hanno mostrato che la variazione genetica sembra moderare la sensibilità degli individui agli eventi ambientali (Dick, 2011; Caspi et al., 2010).

La scelta di un gene target avviene o per la sua posizione genomica o perché esso codifica per la sintesi di una proteina, che si ipotizza contribuisca al percorso causale del fenotipo (Ronald, 2011). Nell'ambito degli studi nella psicologia dello sviluppo, sono stati maggiormente indagati i geni coinvolti con il sistema dopaminergico e serotoninergico.

I dati empirici hanno mostrato che il sistema dopaminergico influenza principalmente il lobo frontale e i gangli della base e agisce come un forte regolatore di diversi aspetti della cognizione e dell'attenzione (Nieoullon, 2002). I neuroni serotoninergici nei mammiferi

formano le più vaste arborizzazioni assonali di tutti i sistemi neuronali e le loro innervazioni appaiono all'inizio dello sviluppo (Papageorgiou & Ronald, 2013).

Uno studio longitudinale (Ebstein et al.,1998; Auerbach et al.,1999;2001) ha mostrato che i bambini di 2 settimane con la versione lunga (L) dell'allele del gene recettore della dopamina (DRD4) avevano punteggi più alti sulle scale del temperamento della scala di valutazione neonatale di Brazelton (NBAS; Brazelton & Nugent, 1995), rispetto ai neonati con la versione corta (S) degli alleli DRD4 (Ebstein et al.,1998). Non è stato riscontrato alcun effetto diretto, invece, dei polimorfismi del gene del promotore del trasportatore della serotonina (5-HTTLPR) su nessuno dei cluster temperamentali (Ebstein et al.,1998). A 2 mesi di età, i partecipanti, che trasportavano L-DRD4, venivano considerati dalle loro madri come meno angosciati dalle limitazioni e con meno emotività negativa, rispetto a quelli con il genotipo S-DRD4. Similmente, i bambini con il genotipo 5-HTTLPR s / s mostravano punteggi più alti di stress ed emotività negativa rispetto ai genotipi sia l / s che l / l (Auerbach et al.,1999). È interessante notare che i bambini con il genotipo 5-HTTLPR s / s in associazione con la presenza di S-DRD4 mostravano maggiore emotività negativa e stress (Auerbach et al.,1999). Uno studio interessante riporta, che i bambini con il genotipo 5-HTTLPR s / s avevano punteggi più elevati di emotività negativa rispetto a quelli che trasportavano il 5-HTTLPR l / l, ma solo a condizione che le loro madri avessero riportato un'ansia elevata livelli durante la gravidanza (Pluess et al.,2011). Contrariamente ai risultati di cui sopra, un recente studio longitudinale ha riportato che L-DRD4 era costantemente associato a livelli più alti di affetto negativo in neonati di 4 e 9 mesi; inoltre, i partecipanti che trasportavano sia L-DRD4 che il genotipo l / l 5-HTTLPR mostravano più alti livelli di affettività negativa (Holmboe et al., 2011).

Auerbach e colleghi (2001) riportavano che, a 12 mesi, i bambini con L-DRD4 mostravano meno emotività negativa e punteggi più elevati di reattività. I bambini con il genotipo 5-HTTLPR s / s hanno mostrato punteggi più bassi (rispetto ai genotipi 5-HTTLPR sia l / l e sia l / s) di stress e latenza significativamente più lunga rispetto alla prima espressione di paura, ma mostravano un punteggio più basso nell' emotività positiva (Auerbach et al.,2001b). In uno studio condotto utilizzando la procedura della Strange Situation (Ainsworth et al.,1978), i bambini di 12 mesi che trasportavano sia il genotipo L-DRD4 che il 5-HTTLPR s / s esibivano maggiore ansia e non erano interessati a interagire con lo sconosciuto, mentre i bambini con entrambi i genotipi L-DRD4 e 5-HTTLPR erano più calmi e interagivano senza problemi con una persona sconosciuta (Lakatos et al.,2003). Un

recente studio riporta, in modo molto interessante, come, in un paradigma di *Still Face*¹ (Tronick, Als, & Adamson, 1979), l'interazione tra il genotipo 5-HTTLPR dei neonati e il coinvolgimento nell'interazione da parte della madre prediceva una lieve emotività negativa durante gli episodi di Still-Face e Reunion per i neonati portatori della variante S, ma non per i neonati omozigoti in L. I risultati hanno evidenziato che il comportamento materno può essere un fattore protettivo per la reattività e la regolazione dello stress, in particolare per i neonati portatori di S che sono a rischio di un'umentata suscettibilità allo stress (Montirosso et al.,2015). Un altro studio longitudinale, che ha valutato le caratteristiche temperamentali e i problemi di regolazione affettiva in base in bambini di 3 mesi, ha rilevato che gli individui con il genotipo L-DRD4 e classificati come affetti da problemi di regolazione all'età di 3 mesi avevano maggiore rischio di sviluppare sintomi del disturbo da deficit di attenzione/iperattività (ADHD) nell'infanzia, mentre gli individui che non trasportavano L-DRD4 ma con una storia di problemi di regolazione affettiva durante l'infanzia non erano ad alto rischio di sviluppare ADHD (Becker et al.,2010).

Altri geni considerati come possibili candidati nello sviluppo del comportamento infantile, sono il gene della monoamina ossidasi-A (MAOA), il gene del fattore neurotrofico cerebrale (BDNF) e il gene che codifica per il recettore mu-opioid (OPRM1). Uno studio di Zhang e colleghi (2011) ha riportato che il genotipo 4/4 del MAOA era associato ad una maggiore capacità di autoregolazione affettiva in bambini di 6 mesi. In età adulta, la presenza di varianti genomiche del MAOA è associata al rischio di disturbo bipolare (Fan et al.,2010). Come ampiamente riportato, il gene BDNF sembra coinvolto sia nella patogenesi della depressione sia nel meccanismo d'azione dei trattamenti antidepressivi (Duman & Monteggia, 2006; Verhagen et al.,2010). Uno studio recente ha mostrato come i neonati di 4 mesi portatori del polimorfismo Met, generalmente considerato come fattore di rischio, presentavano meno capacità di autoregolazione rispetto ai portatori in omozigosi della variante Val, suggerendo che i polimorfismi del BDNF possano influenzare le differenze individuali nel temperamento già precocemente (Giusti et al.,2017).

¹ Il paradigma di *Still-Face* proposta da Tronick (1979) è una procedura sperimentale di osservazione strutturata dell'interazione bambino-caregiver durante i primi 6 mesi di vita del bambino. La procedura prevede tre fasi diverse, che vengono videoriprese per la successiva codifica delle micro-espressioni: fase "play", interazione di gioco *face-to-face* tra madre e bambino; fase "still", la madre rimane immobile a guardare il bambino con un'espressione neutra; fase "reunion", riprende l'interazione di gioco. Attraverso un'analisi microanalitica dei filmati, è possibile osservare le strategie difensive attuate dal bambino in risposta a questa situazione sperimentale di stress, rappresentata dall'incomunicabilità espressiva del caregiver, e delle modalità di strategie di regolazione affettiva.

Il polimorfismo del gene OPRM1 sembra, invece, associato a livelli crescenti di ansia e somatizzazione, in concomitanza con punteggi di disfunzione sociale inferiori (Gonzalez et al.,2019) e con le differenze individuali nell'attaccamento adulto (Nummenmaa et al.,2015). Uno studio recente riporta come i bambini che presentavano l'allele minore del gene OPRM1 era associato a maggiore ansia da separazione solamente in bambini con poca sintonia nella comunicazione con la madre, mentre nelle diadi con elevati livelli di sintonia nella comunicazione la presenza dell'allele minore non era significativamente associato a sintomi di ansia da separazione, suggerendo ancora una volta una suscettibilità differenziale dell'interazione gene-ambiente (Boparai et al.,2018).

2.1.3 Ipotesi e interpretazioni sull'interazione gene-ambiente

Dopo aver esposto come possano interagire i geni e l'ambiente, sembra utile definire quale sia la natura dell'interazione che si è ipotizzata. Come mostrato in Figura 1, sono due i principali tipi di interazione. Un tipo di interazione è definibile "a forma di ventaglio" (Fig. 1a), in cui l'influenza del genotipo è maggiore in un contesto ambientale anziché in un altro. Questo è il tipo di interazione ipotizzato da un quadro di diatesi-stress, in base al quale le influenze genetiche diventano più evidenti, cioè sono più fortemente associate agli outcome comportamentali, in presenza di

condizioni ambientali negative. Esiste una minuscola associazione (quasi assente) del genotipo con l'outcome comportamentale in assenza di esposizioni a particolari condizioni ambientali (Dick, 2011). La letteratura che riguarda la depressione e gli eventi della vita sarebbe un esempio di un'interazione "a forma di ventaglio": quando si

incontrano fattori di stress, gli individui geneticamente vulnerabili sono più inclini a sviluppare la depressione, mentre in assenza di fattori di stress, questi individui potrebbero non avere una maggiore probabilità di sviluppare sintomi depressivi. In sostanza, è solo quando si verificano condizioni ambientali avverse che i geni "sono attivati". Si ipotizza che anche le interazioni gene-ambiente nell'area dell'uso di sostanze in adolescenza si possa

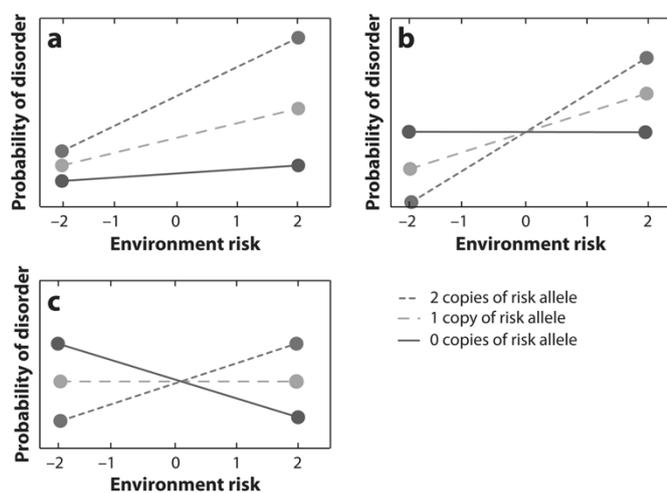


Figura 1 Diverse tipologie di interazione geni-ambiente. (Da Dick, 2011)

considerare “a forma di ventaglio”, in cui alcune condizioni ambientali consentiranno maggiori opportunità di esprimere predisposizioni genetiche (consentendo una maggiore variazione dovuta al genotipo come mostrato nella parte destra della Figura 1a) e altri ambienti eserciteranno un controllo sociale in modo da ridurre gli effetti dell'espressione genetica (Shanahan & Hofer 2005), portando a una varianza genetica ridotta (come mostrato nella p: i diatesi-stress è stato in gran parte il modello dominante in psichiatria. Gli sforzi di ricerca genica si sono concentrati sulla ricerca di geni considerati come fattori di rischio di vulnerabilità e l'interazione gene-ambiente è stata discussa nel contesto di questi effetti genetici che diventano più o meno espressi in particolari condizioni ambientali (Figura 2) (Dick, 2011).

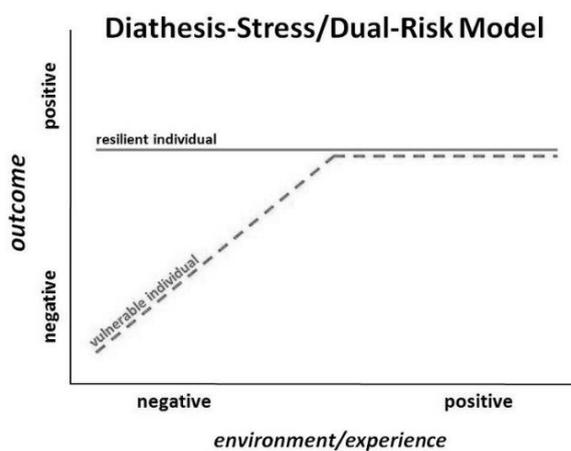


Figura 2. Il modello diatesi-stress (da Pluess, Belsky, Square, *Family Science*, 2010)

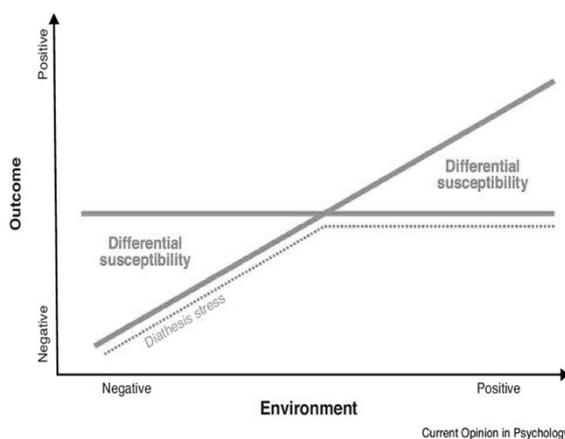


Figura 3. L'ipotesi della suscettibilità (da Belsky, *Current Opinion in Psychology*, 2017)

Più di recente, Belsky e colleghi hanno proposto un quadro alternativo, l'ipotesi della suscettibilità differenziale, in cui gli stessi soggetti che in ambienti negativi possono

manifestare maggiormente sintomi negativi, possono essere anche quelli che hanno maggiori probabilità di beneficiare di ambienti positivi (Figura 3). Invece di cercare “i geni della vulnerabilità”, candidati come fattori di rischio che influenzano gli outcome psichiatrici e comportamentali, propongono l'idea di "geni della plasticità" o geni coinvolti nella reattività alle condizioni ambientali (Belsky et al., 2009). Esaminando la letteratura in merito alle interazioni geni-ambiente, con particolare riferimento ai geni MAOA, 5-HTT e DRD4, Belsky e colleghi (2009) hanno suggerito che i risultati forniscono evidenze a favore di una suscettibilità differenziale associata a questi geni. La loro ipotesi fa riferimento direttamente all'ipotesi, presa in prestito dalla biologia, di sensibilità al contesto (Ellis & Boyce 2008). Secondo tale ipotesi, le pressioni selettive ambientali dovrebbero favorire genotipi che prevedono una gamma di fenotipi in risposta alle condizioni ambientali, perché questa flessibilità sarebbe vantaggiosa dal punto di vista della sopravvivenza della specie. L'aspetto interessante della sensibilità al contesto è che essa ha il potenziale sia per effetti positivi nelle condizioni ambientali più favorevoli sia per effetti negativi in presenza di condizioni ambientali più negative. Questa teoria è stata pienamente sviluppata e discussa nel contesto della reattività allo stress (Boyce & Ellis 2005), dove è stato visto che bambini considerati “altamente reattivi” da un punto di vista genotipico mostrano tassi elevati di morbilità sintomatologica se allevati in ambienti avversi, mentre mostrano tassi particolarmente bassi quando allevati in ambienti con bassi livelli di stress, o ambienti supportivi (Ellis et al., 2005; Ellis & Boyce 2008). Davis e colleghi (2017) hanno riportato come i fattori di sensibilità genetica, fisiologica e comportamentale dei bambini modifichino le associazioni positive tra lo stress materno e le percezioni delle madri di problemi di interiorizzazione, esternalizzazione e sonno del bambino. La sensibilità genetica del bambino sembra moderare le associazioni tra lo stress genitoriale e i problemi di interiorizzazione e di sonno del bambino, suggerendo che gli effetti dello stress genitoriale sugli esiti psicologici correlati del bambino possono essere tamponati o moderati da i diversi fattori di suscettibilità (Davis et al., 2017).

2.2 I possibili meccanismi molecolari sottostanti l'interazione gene-ambiente: introduzione all'epigenetica

Dopo aver illustrato nei paragrafi precedenti i modi in cui è possibile studiare l'interazione gene-ambiente, rimane ancora da chiarire il persistente interrogativo su quali siano i meccanismi, attraverso quali processi biologici, l'esposizione a degli eventi ambientali possa

influire sugli outcome fenotipici². Dai primi studi di biologia evolutiva che suggerirono l'idea che il cervello e il suo sviluppo, come qualsiasi altro organo, siano soggetti a forze evolutive, e dagli studi di genetica comportamentale (Ebstein 2006, Kendler 2001, Plomin & Rutter 1998), che hanno fornito le prime prove di una relazione tra variazioni a livello del genoma e variazioni psicologiche, negli ultimi due decenni è emersa con convinzione sempre maggiore l'ipotesi dei meccanismi epigenetici come possibili candidati nello spiegare, almeno in parte, il modo attraverso il quale gli eventi ambientali possano “entrare sotto pelle”(Dick, 2011) e alterare le funzioni genetiche e biologiche.

Prima di entrare nello specifico e approfondire cosa si intenda per processi epigenetici, è bene ricordare che l'epigenetica non si riferisce direttamente all'interazione gene-ambiente in senso statistico, così come discussa in precedenza. I processi epigenetici probabilmente ci dicono qualcosa sui meccanismi biologici attraverso cui l'ambiente può influenzare l'espressione genica e avere un impatto sul comportamento, ma non sono informativi rispetto alla distinzione tra effetti ambientali interattivi o additivi. Inoltre, come evidenziato da Zhang e Meaney (2010), è importante notare che il semplice fatto che i geni codifichino per le proteine, non vuol dire che essi codifichino per le funzioni. Pertanto, come descritto di seguito, gli effetti che si rilevano sulla variazione genetica sono contesto-specifici e da considerare come probabilistici. La funzione cellulare può essere compresa solo in termini di dialogo costante tra il genoma e il suo ambiente. L'ambiente regola i segnali cellulari che controllano il funzionamento del genoma (Harper 2005).

2.2.1. La trascrizione genica

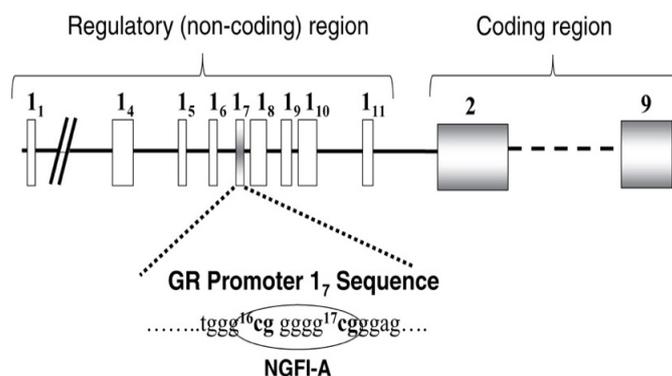
Come ben riportato da Gilbert (2006), dallo studio della trascrizione genica emergono le evidenze più convincenti della predominanza dell'interazione geni-ambiente direttamente nelle funzioni cellulari. Per ovvie ragioni legate alla sopravvivenza dell'organismo, la trascrizione del genoma è un evento altamente regolato. Il processo di trascrizione è governato principalmente da specifiche proteine, denominate fattori di trascrizione, che hanno la capacità di legarsi agli elementi regolatori del gene e di attivare o reprimere la trascrizione genica. Uno degli aspetti più interessanti è che l'espressione e l'attivazione dei fattori di trascrizione stessi è regolata dinamicamente da segnali ambientali (Zhang & Meaney, 2010). Molti stimoli ambientali sono associati a rapide risposte cellulari che

² Con fenotipo si intende qualsiasi caratteristica o tratto osservabile di un organismo, come la sua morfologia, sviluppo, proprietà biochimiche o fisiologiche o comportamento (O'Brien, 2002).

comportano anche l'attivazione di segnali di trascrizione pre-esistenti, attraverso una serie di modifiche chimiche, ad esempio l'aggiunta di un gruppo fosfato a specifici aminoacidi della proteina (processo noto come fosforilazione), o attraverso l'aumento dell'espressione genica da cui deriva una rapida sintesi di proteine che, a loro volta, servono a regolare l'attività di ulteriori geni, come, ad esempio, nel caso dei geni coinvolti nella plasticità sinaptica.

È proprio il legame dei fattori di trascrizione ai siti del DNA il meccanismo biologico su cui focalizzarsi per studiare le interazioni dinamiche gene-ambiente, le quali, in ultima analisi, a livello molecolare, si traducono in variazioni nella trascrizione genica.

Un esempio dell'organizzazione genomica è rappresentato graficamente nella figura 4, in cui si illustra la struttura del gene del recettore dei glucocorticoidi (vedi Figura 4).



R Zhang T-Y, Meaney MJ. 2010. Annu. Rev. Psychol. 61:439-66

Figura 4. Esempio di organizzazione del gene che codifica per il recettore dei glucocorticoidi di ratto, che comprende 9 regioni di esoni. Gli esoni da 2 a 9 partecipano alla codifica per la proteina del recettore dei glucocorticoidi. Invece, l'esone 1 è composto da più regioni regolatorie, ognuna delle quali è in grado di attivare la trascrizione genica, per esempio sequenze di promotori. L'attività dei vari promotori dell'esone 1 è specifica del tessuto (Turner & Muller 2005). L'uso di promotori multipli consente la regolazione in un tessuto indipendentemente dalle altre regioni (ad esempio, prima della nascita può consentire un aumento del recettore dei glucocorticoidi nei tessuti polmonari, necessario per la competenza respiratoria al parto, ma permette di mantenere al contempo livelli ridotti del recettore dei glucocorticoidi nel cervello, dove gli effetti di essi potrebbero inibire la neurogenesi). Va notato che la posizione dei promotori nella presente immagine si trova all'interno del promotore dell'esone 17, tuttavia questa organizzazione non è necessariamente tipica e gli elementi regolatori (promotori o esaltatori) tra esoni possono assumere posizioni differenti (ad esempio, in siti che sono 5 o 3 rispetto alla regione di codifica).

Lo schema, essendo una semplificazione grafica, è in realtà un po' fuorviante. L'organizzazione del gene, infatti, è descritta come se il DNA fosse una molecola lineare a cui possono legarsi i fattori di trascrizione senza incontrare ostacoli. In realtà, il DNA è organizzato in unità denominate nucleosomi, ognuna delle quali contiene circa 145-150 coppie di basi avvolte attorno alla regione centrale di proteine note con il nome di istone

(Turner 2001). Gli istoni e il DNA insieme sono indicati come cromatina; il nucleosoma è l'organizzazione della cromatina (figura 5).

In condizioni normali le proteine dell'istone e il DNA relativo sono strettamente connessi fisicamente, e la configurazione nucleosomica risulta essere piuttosto chiusa. Questa

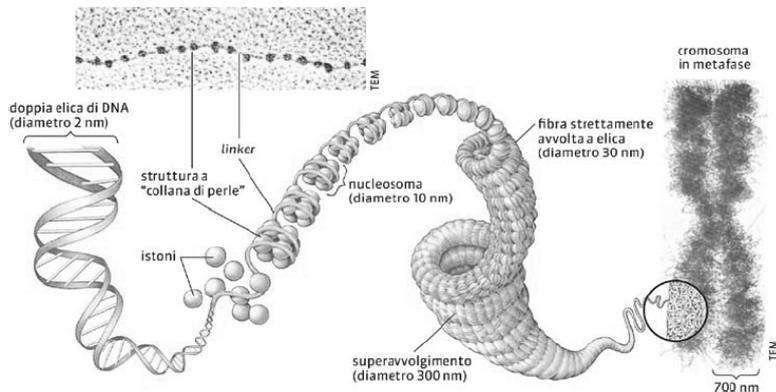
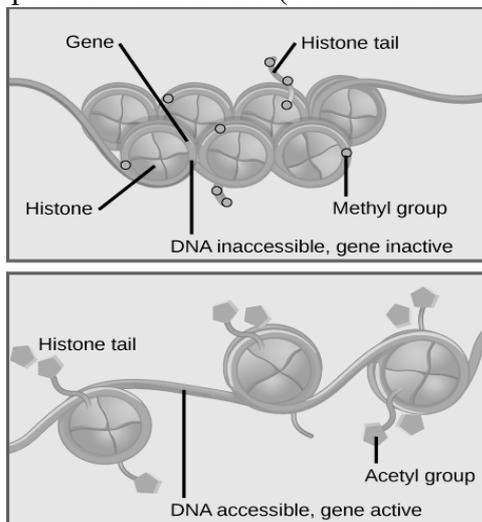


Figura 5. Organizzazione strutturale del DNA

configurazione chiusa è mantenuta, in parte, dai legami elettrostatici tra gli istoni carichi positivamente e il DNA caricato negativamente. La configurazione chiusa impedisce al fattore di trascrizione di legarsi ed è associata a un livello ridotto di espressione genica. Per poter ottenere un aumento dell'espressione genica, conseguente al legarsi dei fattori di trascrizione al DNA, è necessario comunemente una modifica chimica della cromatina che si verifica sulle proteine dell'istone. Nello specifico, i target di questo processo sono gli aminoacidi che formano le code degli istoni. Queste modifiche alterano la cromatina in modo tale da aumentare o diminuire la capacità dei fattori di trascrizione di accedere ai siti regolatori sul DNA che controllano la trascrizione genica (Zhang & Meaney, 2010).

Le alterazioni dinamiche della struttura della cromatina sono ottenute attraverso una serie di enzimi che si legano alle code degli istoni e modificano le proprietà chimiche locali di specifici aminoacidi (Grunstein 1997, Hake & Allis 2006, Jenuwein & Allis 2001). Ad



Methylation of DNA and histones causes nucleosomes to pack tightly together. Transcription factors cannot bind the DNA, and genes are not expressed.

Histone acetylation results in loose packing of nucleosomes. Transcription factors can bind the DNA and genes are expressed.

Figura 6. I meccanismi di metilazione e acetilazione del DNA (da Texas Education Agency)

esempio, l'enzima acetiltransferasi trasferisce un gruppo acetilico su aminoacidi specifici delle code dell'istone. L'aggiunta di questo gruppo acetilico riduce la carica positiva, allentando la relazione tra gli istoni e il DNA, aprendo la cromatina e migliorando la capacità dei fattori di

trascrizione di accedere ai siti del DNA. Pertanto, l'acetilazione dell'istone è comunemente associata alla trascrizione genica attiva. L'acetilazione degli istoni è un processo dinamico regolato da segnali ambientali (Zhang & Meaney, 2010).

Un secondo livello di regolazione si verifica direttamente sul DNA e non sulle proteine dell'istone.

Come vedremo più avanti, in effetti, classicamente, gli effetti ambientali sono stati indagati maggiormente in relazione alla metilazione del DNA, un meccanismo che comporta l'aggiunta alle citosine nel DNA di un gruppo metilico (CH₃) (Bird 1986, Holliday 1989, Razin & Riggs 1980). La metilazione del DNA è associata al silenziamento della trascrizione genica (Figura 6). Questo effetto sembra essere ottenuto in due modi differenti (Bird 2002). In primo luogo, il fattore di trascrizione non può accedere ai siti di legame del DNA perché i gruppi metilici ne precludono fisicamente la possibilità, mettendo così a tacere l'espressione genica. Nella seconda modalità, specifiche citosine sono metilate e la presenza del gruppo metile attira un'altra classe di proteine, note come "proteine leganti-il DNA metilato" (Klose & Bird 2007). A loro volta, queste proteine attraggono un altro gruppo di proteine che forma un complesso "repressore", che include mediatori attivi del silenziamento genico, come ad esempio gli HDAC, che impediscono l'acetilazione dell'istone e favoriscono uno stato di cromatina chiuso che limita il legame del fattore di trascrizione e, dunque, l'espressione genica. Questo secondo meccanismo di silenziamento genico è più sottile e probabilmente più diffuso nelle regioni con variazioni nella trascrizione che hanno maggiore necessità di essere dinamiche, come nel sistema nervoso (Zhang & Meaney, 2010).

L'esistenza di modifiche epigenetiche del genoma è nota da molto tempo. Come esempio, tutte le cellule del corpo condividono lo stesso DNA; di conseguenza, deve esistere un meccanismo in base al quale a partire dallo stesso DNA le cellule iniziano a differenziarsi. Il processo di specializzazione cellulare comporta il silenziamento di determinate porzioni del genoma in un modo specifico per ciascuna cellula. La metilazione del DNA è un meccanismo noto per essere coinvolto nella specializzazione cellulare (Dick, 2011).

Tuttavia, va sottolineato che questo tipo di modificazioni epigenetiche già note da tempo (come la specializzazione cellulare o l'inattivazione della seconda copia di X nelle femmine) si verificano tutte all'inizio dello sviluppo e sono stabili. Il fatto che le modifiche epigenetiche possano continuare a verificarsi durante lo sviluppo, e possano essere reversibili attraverso processi dinamici, ha rappresentato un grande cambiamento di paradigma nella nostra comprensione della regolazione ambientale dell'espressione genica (*Ibidem*).

Molti studi di psicobiologia e fisiologia dello sviluppo riportano esempi di quella che viene detta “programmazione” ambientale dell'espressione genica (Zhang & Meaney, 2010).

Tali studi riportano comunemente che una variazione dell'ambiente precoce si associa a cambiamenti nell'espressione genica e nella funzione biologica che persistono nell'età adulta e quindi ben oltre la durata del pertinente evento ambientale. Negli studi condotti sui ratti, ad esempio, la privazione prenatale dei nutrienti o una maggiore esposizione ai segnali ormonali associati allo stress alterano stabilmente, o programmano, l'attività dei geni nel fegato e altri siti associati al glucosio e al metabolismo dei grassi, incluso il gene del recettore del glucocorticoide (Bateson et al., 2004; Gluckman & Hanson 2004, 2007; Jirtle & Skinner 2007; Meaney et al., 2007; Seckl & Holmes 2007).

L'ipotesi di fondo di questi studi è che il funzionamento di una regione genomica in età adulta vari in funzione delle prime esperienze ambientali. Nonostante questo tipo di studi sia stato condotto principalmente sui modelli animali, sono stati ispirati dalla vasta letteratura scientifica che riporta gli effetti pervasivi dell'ambiente familiare sugli esiti della salute nell'uomo (Repetti et al., 2002). In effetti, generalmente, le evidenze provenienti dagli studi di programmazione epigenetica mostrano che le interazioni gene-ambiente che si verificano nella prima infanzia possano portare ad un'alterazione strutturale del DNA, che a sua volta media gli effetti sull'espressione genica e su livelli più complessi di fenotipo (Jirtle & Skinner 2007, Meaney 2007, Meaney & Szyf 2005).

2.3. Diversi livelli di indagine nello studio dell'interazione gene-ambiente

2.3.1. L'influenza dell'ambiente sociale precoce sull'organismo

Gli studi sugli animali hanno fornito prove convincenti che le manipolazioni ambientali iniziali possono essere associate ad effetti a lungo termine sui sistemi neurobiologici che persistono fino all'età adulta (Dick, 2011). Come scritto in precedenza, vi sono molteplici evidenze provenienti da studi epidemiologici condotti sull'uomo, relativi agli effetti persistenti delle esperienze precoci di abuso, abbandono e variazioni nello stile genitoriale, che suggeriscono che i diversi sistemi neurali possano essere modulati attraverso il contesto sociale che si esperisce durante lo sviluppo (Champagne & Curley, 2011). Tali studi hanno fornito il primo supporto significativo per l'ipotesi secondo cui le traiettorie di sviluppo possano essere plasmate dalla qualità dell'ambiente sociale della prima infanzia, risultando in fattori di rischio o di resilienza a disagi psicopatologici nella vita adulta. Nell'uomo,

l'abbandono e l'abuso hanno dimostrato di ridurre le prestazioni cognitive e compromettere lo sviluppo sociale (Trickett e McBride-Chang 1995). Studi condotti su neonati istituzionalizzati in Romania, hanno mostrato che i ritardi nella crescita, nello sviluppo sociale e cognitivo osservati negli orfani erano associati a successive difficoltà nell'attaccamento, maggiore disattenzione e aumento dei comportamenti di tipo autistico, confermando ulteriormente gli effetti persistenti della deprivazione nella prima infanzia (Beckett et al., 2002; MacLean 2003; O'Connor e Rutter 2000; O'Connor et al., 2000; Rutter e O'Connor 2004). Sebbene sia difficile identificare il particolare aspetto delle esperienze precoci di neglect che contribuisca a queste problematiche nello sviluppo, si ritiene che l'interruzione della relazione madre-bambino, sia da un punto di vista fisico che emotivo, sia intensamente associato a queste difficoltà. D'altra parte, le variazioni nella relazione di attaccamento tra madre e bambino sono state associate alla resilienza verso il disagio psicologico o all'aumento di rischio di psicopatologia (Sroufe et al., 1999; Sroufe 2005). Una valutazione retrospettiva della qualità della relazione madre-bambino suggerisce che bassi livelli di cure materne combinati con genitori iperprotettivi sono un fattore predittivo significativo della depressione dell'adulto (Parker et al., 1979; Parker 1993). Complessivamente, questi studi indicano che un'alterazione del primo ambiente sociale, in particolare delle interazioni tra la madre e il bambino, può avere effetti su numerosi esiti bio-comportamentali in età adulta (Champagne & Curley, 2011).

Gli studi sui modelli animali, permettendo di creare più facilmente aspetti controllabili di abbandono, abuso o variazioni nella qualità delle cure genitoriali, ha permesso di comprendere i meccanismi sottostanti le prime esperienze di vita e gli outcome nell'età adulta che si osservano negli studi longitudinali sull'uomo.

Come riportato nel primo capitolo della presente trattazione, gli studi di Harry Harlow sullo sviluppo dei macachi *rhesus* esposti alla privazione materna forniscono prove del fatto che l'assenza di interazioni madre-bambino durante le prime fasi dello sviluppo può portare ad assenza o alterazioni nel gioco sociale, iperattività e sensibilità agli stress (Harlow et al., 1965; Seay e Harlow 1965; Suomi et al., 1971). Gli studi in cui i cuccioli hanno un contatto sociale con i pari ma non con la madre ha dimostrato ulteriormente l'importanza del contatto madre-cucciolo, come riportato da uno studio di Suomi (1991) in cui erano presenti anomalie nello sviluppo nei cuccioli di macaco allevati unicamente in contatto sociale con i pari. Quando alterando le condizioni esterne, in modo da rendere instabile la disponibilità di cibo, le madri di macaco divengono meno sensibili ai segnali dei cuccioli, essi mostrano livelli elevati di comportamento simile all'ansia e sono meno sociali nell'età adulta (Coplan et al.,

1995, 2005; Gorman et al., 2002). Queste variazioni nell'interazione madre-bambino si verificano anche naturalmente tra le colonie di macachi. L'abuso materno sotto forma di trascinamento e calpestamento dei cuccioli, relativamente frequente in macachi allevati in isolamento (Berman 1990; Carroll e Maestripieri 1998), è associato ad un inizio ritardato nel gioco sociale e a iperaggressività in ambienti nuovi (McCormack et al., 2006).

Nonostante gli studi sui primati non umani forniscano un modello utile per esplorare come esperienze di *neglect*, abuso e variazioni nel comportamento materno possano modellare i sistemi biologici e comportamentali in via di sviluppo, gli studi sui roditori di laboratorio hanno fornito la maggior parte delle evidenze in merito. In generale, nei modelli murini, la separazione o la privazione prolungata dal contatto materno inducono comportamenti ansiosi intensificati, prestazioni ridotte nelle attività di apprendimento e mnemoniche e una riduzione dei comportamenti sociali nell'età adulta (Lehmann et al., 1999; Lovic and Fleming 2004).

Le variazioni individuali negli stili materni osservate nell'uomo e nei primati non umani sono presenti anche nei roditori di laboratorio e possono essere associate a traiettorie di sviluppo divergenti. Nei ratti e nei topi, ci sono variazioni individuali in diversi aspetti del comportamento materno durante la prima settimana dopo il parto (Champagne et al., 2003, 2007). In particolare, ci sono variazioni comuni tra le madri nella frequenza della leccatura / *grooming*³ dei cuccioli (LG). Una strategia per studiare l'influenza a lungo termine delle interazioni madre-cucciolo è quella di osservare il comportamento LG di una coorte di femmine in allattamento e confrontare le misure di esito tra prole allevate da madri alti o bassi comportamenti LG (Champagne et al., 2003). Questa metodologia di indagine ha mostrato come i comportamenti LG della madre sia associato alle differenze individuali nella risposta allo stress, nella risposta a novità, apprendimento e memoria e numerosi indici di comportamento sociale / riproduttivo nei cuccioli (Meaney 2001). Le variazioni dei comportamenti LG durante il periodo postnatale possono anche essere indotte dallo stress gestazionale (Champagne & Meaney 2006; Moore and Power 1986), dall'esposizione delle nuove madri all'odore dei predatori (McLeod et al., 2007) e da varie manipolazioni dell'ambiente postnatale e di crescita delle madri stesse (Champagne e Meaney 2007; Lovic et al., 2001), con conseguenze per lo sviluppo della prole.

³ Con il termine *grooming* ci si riferisce al comportamento di pulizia del mantello o della pelle esibito da molti mammiferi, il quale, quando sia svolto reciprocamente (*allogrooming*, contrapposto all'*autogrooming*), assume anche un significato di consolidamento dei legami e riaffermazione delle gerarchie tra i membri di un gruppo sociale. Nell'interazione madre-cucciolo rappresenta una delle modalità di cura da parte della madre.

Pertanto, la plasticità nel comportamento materno in risposta alle condizioni ambientali sembra essere una via attraverso la quale la qualità dell'ambiente può modellare la fisiologia, il cervello e il comportamento della prole (Champagne & Curley, 2011).

2.3.1. Effetti neurobiologici delle interazioni sociali sul sistema nervoso in via di sviluppo

Dagli studi sui modelli animali esposti nel paragrafo precedente, è stato possibile iniziare ad indagare gli effetti dell'ambiente sociale sul sistema neurobiologico anche in coorti umane. Gli effetti dell'ambiente sociale precoce sono stati principalmente esplorati in relazione alle reazioni neuroendocrine. Si è visto che la qualità dell'ambiente della prima infanzia esercita effetti persistenti sulla risposta ipotalamica - ipofisi-surrene (HPA) allo stress (per approfondire vedi Korosi e Baram 2009). Nelle prime fasi dello sviluppo, le esperienze sociali caratterizzate da maggiori livelli di stimolazione tattile tra la madre e il bambino sono associate generalmente ad una riduzione a lungo termine della reattività dell'HPA allo stress (Champagne & Curley, 2011). In modelli murini, è stato riportato come ratti adulti che erano stati cresciuti da madri con frequenti comportamenti di LG mostravano risposte allo stress con una reattività attenuata, una ridotta espressione dell'acido ribonucleico messaggero (mRNA)⁴ degli ormoni ipotalamo-ipofisari (CRH e PVN) e una maggiore espressione del gene che codifica per il recettore dei glucocorticoidi (GR) nell'ippocampo (Francis et al., 1999; Liu et al., 1997; Meaney & Aitken 1985; Meaney et al., 1985, 1989; Viau et al., 1993). Coerentemente, la separazione postnatale dalla madre si associa ad una maggiore reattività allo stress, con conseguente riduzione dell'espressione del GR nell'ipotalamo e nell'ippocampo (Ladd et al., 2004; Plotsky & Meaney 1993). Sembra, dunque, che i circuiti neurali coinvolti nell'emotività siano modulabili in risposta alle esperienze di vita precoci, ed in particolare, siano sensibili alle esperienze che influenzano la frequenza delle interazioni madre-bambino (Champagne & Curley, 2011). Gli studi presentati finora hanno indagato l'associazione dell'influenza ambientale sociale sulle cascate di eventi neuroendocrini, con particolare riferimento alla regolazione della risposta allo stress. Tuttavia, studi su modelli murini hanno mostrato che la separazione dalla madre sembra avere effetti anche sui sistemi neurobiologici delle monoamine. Nei topi separati dalla madre nelle prime due settimane si ad un aumento della dopamina (DA) nel corpo striato (Ognibene et al., 2008), a maggiori livelli di recettori della dopamina D1 nel nucleo

⁴ L'acido ribonucleico messaggero (mRNA) ha il compito di codificare e portare informazioni durante la trascrizione dal DNA ai siti della sintesi proteica, per iniziare il processo di traduzione del DNA.

accumbens (NAc) e nel putamen caudato, e a minori livelli di trasportatore della dopamina (DAT) (Brake et al., 2004).

La separazione dalla madre nei cuccioli di ratto è associata ad una riduzione dei livelli di 5-HIAA e HVA (serotonina (5-HT)) nell'amigdala e a un aumento dei livelli di 5-HT e 5-HIAA indotti dallo stress (Arborelius & Eklund 2007). Inoltre, periodi prolungati di separazione nei ratti sono associati a riduzioni nell'espressione del recettore ippocampale N-metil-D-aspartico (NMDA) e alle subunità α -ammino-3-idrossil-5-metil-4-isossazolepropionato (AMPA) (Bellinger et al., 2006; Pickering et al., 2006; Roceri et al., 2002). Gli effetti della separazione precoce dalla madre sono visibili anche sul recettore dell'ossitocina che risulta ridotto nei gangli della base e nell'ipotalamo dei topi allevati senza la madre nelle prime settimane di vita (Lukas et al., 2010). Allo stesso modo, è stato dimostrato che le variazioni del comportamento materno esercitano influenze a lungo termine sui sistemi neuropeptide dopaminergico, GABAergico, glutamatergico, ossitocina e vasopressina e sul fattore neurotrofico derivato dal cervello (BDNF) (Zhang et al., 2005; Caldji et al., 2000, 2003, 2004; Bredy et al., 2003, 2004; Liu et al., 2000). Nel complesso, questo tipo di studi illustra gli effetti generali delle alterazioni precoci nella qualità della vita sui sistemi neurobiologici. Il fatto che l'ambiente sociale possa modulare dei sistemi neurobiologici specifici ha delle interessanti implicazioni per lo studio delle risposte di ansia, di stress, del comportamento sociale e della cognizione, tanto da far supporre che queste esperienze di vita precoce possano avere degli effetti sullo sviluppo che proseguano e persistano nell'età adulta (Champagne & Curley, 2011).

I risultati di questi studi sui modelli murini sono stati confermati anche su primati non umani e su uomini, fornendo ulteriore supporto agli effetti delle esperienze sociali sull'attivazione specifica delle regioni cerebrali, dei livelli di neurotrasmettitori e sulle variazioni nell'espressione genica. Nei primati non umani, le riduzioni del contatto madre-cucciolo hanno un profondo impatto sulla risposta dell'HPA allo stress (Barr et al., 2004; Suomi 1991). I cuccioli di macachi *rhesus* allevati solamente con il gruppo di pari hanno mostrato un aumento del volume delle regioni cerebrali sensibili allo stress, come la corteccia prefrontale dorsomediale e la corteccia cingolata anteriore dorsale (ACC) (Spinelli et al., 2009) e presentano un ridotto legame del trasportatore della serotonina nell'ipotalamo, nel caudato e nel putamen, nel globus pallidum, nel giro cingolato anteriore, nell'amigdala e nell'ippocampo (Ichise et al., 2006; Spinelli et al., 2010). Cuccioli di macachi *rhesus* non allevati dalla madre presentano ridotti livelli di ossitocina nel fluido cerebrospinale (CSF),

che è stato associato alla riduzione del comportamento sociale osservato in tali cuccioli (Winslow 2005).

Sembra, dunque, che gli studi sui primati non umani confermino che le vie neurobiologiche specifiche siano simili a quelle implicate nei modelli murini di abuso, abbandono e variazioni del comportamento genitoriale. Per quanto riguarda gli studi sugli uomini, si è visto che effettivamente le esperienze sociali sembrano modulare l'attività delle vie neurobiologiche. L'abbandono e l'abuso infantili sono stati associati all'aumento del volume dell'ipofisi e all'aumento dell'attività dell'HPA (Fries et al., 2008; Gerra et al., 2008; Neigh et al., 2009). Uno studio retrospettivo mostra come punteggi auto-riferiti in merito all'abbandono emotivo nell'infanzia siano associati negativamente con i livelli di CSF nel metabolismo delle catecolamine⁵ (Roy 2002). Inoltre, l'abbandono infantile sembra essere associato a livelli ridotti di BDNF plasmatico in pazienti depressi e tale riduzione è stata associata ai deficit cognitivi presenti in questi soggetti (Grassi-Oliveira et al., 2008). Gli effetti delle esperienze sociali sembrano tradursi anche in cambiamenti strutturali. Bambini istituzionalizzati durante l'infanzia mostrano una riduzione del volume complessivo della sostanza bianca e della sostanza grigia e un aumento dell'amigdala (Mehta et al., 2009), e una riduzione dell'attività metabolica nel giro fronto-orbitale, della corteccia prefrontale dorsale, dell'amigdala, dell'ippocampo, della corteccia temporale laterale e del tronco cerebrale (Chugani et al., 2001).

Va notato che gli studi condotti su umani presentati sinora mostrano gli effetti dell'ambiente sociale in situazioni a limite, di grave mancanza affettiva. Tuttavia, anche le variazioni naturali nelle cure genitoriali sembrano sortire degli effetti. Evidenze sulle variazioni nella relazione con i genitori, riportate retrospettivamente, mostrano che bassi livelli di cure genitoriali sono negativamente associate con i livelli cerebrospinali (Lee et al., 2006). Pruessner e colleghi (2004) hanno mostrato, attraverso la tomografia a emissione di positroni (PET), come bassi livelli di cure materne siano associati ad un aumento del rilascio di dopamina nello striato ventrale in risposta allo stress, mentre elevati livelli di cura materna sono correlati con una riduzione del cortisolo salivare in risposta allo stress e una riduzione dell'ansia di tratto. Inoltre, alti livelli di cure paterne riportate retrospettivamente sono stati associati positivamente con il volume della materia grigia nella corteccia prefrontale dorsolaterale sinistra (DLPFC), mentre bassi livelli di cure da parte di entrambi i genitori

⁵Al metabolismo delle catecolamine appartengono specifici acidi, come l'acido omovanillico (HVA), che derivano dalla deaminazione e O-metilazione della dopamina. I metaboliti delle catecolamine sono usati come reagenti per individuare gli enzimi ossidativi e per misurare i livelli di dopamina nel cervello.

erano correlate negativamente con il volume della medesima area (Narita et al., 2010). Uno studio prospettico condotto da Rao e colleghi (2010) mostra come le cure genitoriali, valutate da osservatori esterni a 4 mesi di età del bambino, predicevano il volume dell'ippocampo in adolescenza. Nel tentativo di catturare una dimensione continua di cura nell'uomo analoga agli studi sui comportamenti LG condotti sui ratti, uno studio ha esaminato il comportamento del caregiver durante le attività di routine (cambio del pannolino, vestizione e alimentazione (Hane & Fox, 2006; Hane & Philbrook, 2012)) a 9 mesi, in cui è emerso che la scarsa qualità del comportamento di cura era correlato a profili bio-comportamentali infantili riconducibili a risposta di paura nei confronti di nuovi segnali, scarsa attenzione in un compito sociale e maggiore reattività allo stress, nonché successive difficoltà sociali a 2-3 anni (Hane et al., 2010). Inoltre, queste associazioni si sono mantenute dopo aver corretto per il temperamento infantile, suggerendo che la qualità delle cure possa avere un impatto diretto sulla risposta allo stress del bambino indipendentemente dai fattori temperamentali.

Complessivamente, anche gli studi condotti sugli umani suggeriscono che le avversità che si verificano nella prima infanzia possano modulare i sistemi neurali relativi alla regolazione dell'ansia, dei comportamenti sociali e dei sistemi di cognizione, sfociando in possibili *outcome* sfavorevoli in età adulta.

2.3.2. Effetti epigenetici delle interazioni sociali sul sistema nervoso in via di sviluppo: modelli animali

Nel paragrafo precedente sono stati riportati studi sull'influenza delle esperienze sociali precoci sui percorsi neurobiologici e comportamentali, tuttavia, nell'ultima decade è emerso un ulteriore livello di indagine che estende la possibilità di comprendere l'associazione tra ambiente sociale e variazione fenotipica, indagando gli effetti ambientali sulla regolazione epigenetica dell'attività genetica. Come esposto in precedenza, la regolazione epigenetica della trascrizione è una caratteristica critica del legame tra genotipo e fenotipo e si riferisce a quei fattori che controllano l'accessibilità del DNA alla trascrizione e che possono alterare i livelli di espressione genica (o silenziando i geni o aumentando l'attività trascrizionale) senza alterare la sequenza di DNA (Dick, 2011). Similmente a quanto è stato fatto negli studi sui pattern neurobiologici, gli studi di epigenetica comportamentale hanno studiato gli effetti del primo ambiente sociale in modelli sperimentali di separazione materna e delle variazioni nelle interazioni madre-bambino durante lo sviluppo postnatale in modelli animali. La separazione materna giornaliera e prolungata sembra avere effetti su un'ampia gamma di

geni la cui attività è associata a neurotrasmettitori e sistemi neuropeptidi (Roth et al., 2009; Murgatroyd et al., 2009).

Nello specifico, ad esempio, è stata riportata un'associazione positiva tra l'esposizione quotidiana a interazioni sociali abusanti da parte della madre e una riduzione dei livelli di espressione del BDNF nella corteccia prefrontale della prole e un aumento della metilazione del DNA nella regione del promotore BDNF IV, cambiamenti che persistono poi nell'età adulta (Roth et al., 2009). Ai fini della presente trattazione, tuttavia, sono più esplicativi gli studi di epigenetica comportamentale relativi alle naturali variazioni che si verificano nelle cure genitoriali. Prove convergenti provenienti da studi su primati e roditori supportano l'ipotesi che l'ambiente

materno abbia una profonda influenza sul fenotipo della prole e che questa influenza sia mediata dai cambiamenti nell'espressione genica (per approfondire Champagne & Curley,

2009; Dettmer & Suomi, 2014). Le variazioni nelle cure materne postnatali nel ratto sono associate a cambiamenti in numerose vie recettoriali, laddove, nello specifico, la

prole di madri con bassi comportamenti di LG si associa con effetti specifici nell'ippocampo sull'espressione del GR, con conseguente innalzamento dei livelli di reattività dell'HPA allo stress (Liu et al. 1997). Weaver e colleghi (2004) sono stati tra i primi a mostrare che questi pattern di espressione epigenetica, associati alle cure materne nel periodo postnatale, si mantengono anche nell'età adulta (Figura 7). Non è attualmente ancora chiaro quali siano i percorsi attraverso cui gli effetti della cura materna si traducano in questi cambiamenti; ad

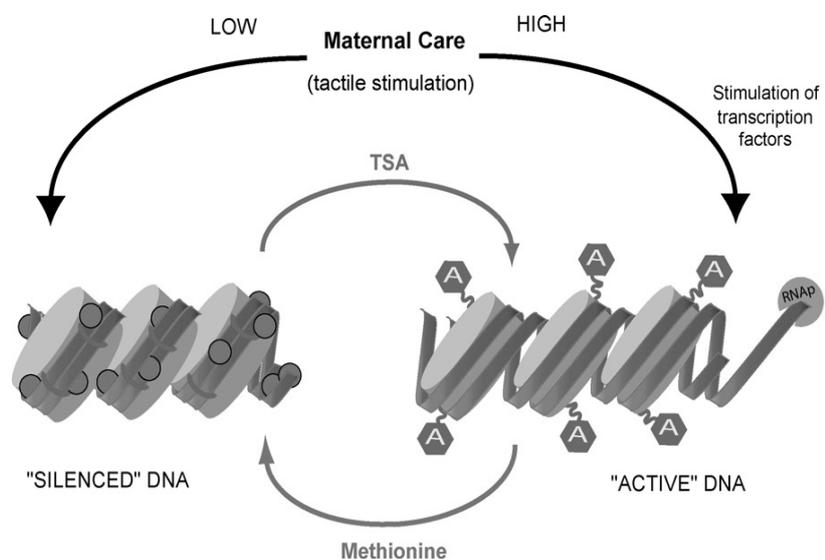


Figura 7. Le modifiche epigenetiche del DNA in associazione con la stimolazione tattile materna. Il DNA "Silenziato" è fortemente metilato, con le code dell'istone deacetilate. In questo caso, il DNA è strettamente "legato" alle proteine dell'istone (cilindri) impedendo la trascrizione da parte del RNA polimerasi (RNAP). Il DNA "attivo", invece, è demetilato e le code dell'istone sono acetilate (poligoni "A") che consentono la trascrizione da parte del RNA polimerasi. Nel ratto, alti livelli di stimolazione tattile da parte delle madri portano alla riduzione stabile a lungo termine della metilazione dei promotori del gene GR nell'ippocampo. Si ritiene che ciò avvenga attraverso la stimolazione di fattori di trascrizione come NGFI-A e Stat-5. Bassi livelli di stimolazione tattile da parte delle madri di ratto portano alla metilazione e alla deacetilazione dello stesso promotore genetico (da Champagne & Curley, 2009).

esempio, i cuccioli di madri con frequenti comportamenti LG mostrano bassi livelli di metilazione del DNA del gene GR e sembra probabile che i comportamenti di LG materni modulino la regolazione della proteina A del fattore di crescita neuronale (NGFI-A) nell'infanzia, che potrebbe attivare la trascrizione del GR e regolare i livelli di metilazione del DNA nella regione di promozione del GR (Weaver et al. 2007). Inoltre, Mc Gowan e colleghi (2011), analizzando l'associazione tra le naturali variazioni nelle cure materne e lo stato di espressione del gene GR, hanno mostrato che i ratti adulti che avevano ricevuto alti livelli di cure materne mostravano cambiamenti epigenetici nei promotori, negli esoni e nelle estremità di alcuni loci specifici, mentre altri loci di questo gene rimanevano invariati. Tale configurazione di espressione genica potrebbe indicare una risposta specifica clusterizzata e modellata dalle variazioni delle cure materne, che potrebbe comprendere non solo i singoli promotori dei geni candidati ma anche le sequenze trascrizionali e intrageniche che si trovano lontane dai siti promotori.

2.3.3. Effetti epigenetici delle interazioni sociali sul sistema nervoso in via di sviluppo: i primi studi sugli esseri umani

Come presentato nel paragrafo precedente, gli studi sui modelli murini hanno mostrato come le esperienze sociali nelle prime settimane di vita abbiano delle conseguenze durature per le risposte comportamentali e neuroendocrine allo stress nella prole (Caldji et al., 2000; Liu et al., 1997; Burton et al., 2007; Jutapakdeegul et al., 2003). Inoltre, gli studi sulle variazioni materne in un contesto naturale hanno messo in luce come le cure materne nel primo periodo di vita sia associabile a manifestazioni fenotipiche e espressioni geniche, indipendenti dalle DNA ereditato (Weaver et al., 2004; Liu et al., 2000; Meaney, 2010). A partire da questi intriganti risultati, alcuni studi recenti hanno indagato se le prime esperienze sociali postnatali si associno alla metilazione del DNA anche nell'uomo. Una recente metanalisi (Turecki & Meaney, 2016) ha indagato gli effetti delle avversità sociali nell'ambiente precoce sulla risposta allo stress e della metilazione del gene GR. Questo studio di metanalisi ha trovato una grande coerenza tra gli studi sulle avversità nella prima infanzia e l'effetto dello stress genitoriale, nonostante le variazioni nelle misure dell'ambiente precoce. Nello specifico la metanalisi conclude che le avversità nelle prime fasi di vita si associno ad un aumento della metilazione nell'esone GR 1F del gene del recettore dei glucocorticoidi (*Ibidem*). Romens e colleghi (2015), ad esempio, riportano come i bambini esposti ad abusi fisici precoci presentino maggiori livelli di metilazione dell'esone GR 1F nei leucociti. Altri

studi hanno suggerito che le esperienze di istituzionalizzazione precoce (Esposito et al., 2016; Naumova et al., 2012) e l'abuso in età infantile (Suderman et al., 2014) si associno alla metilazione del DNA in siti specifici durante lo sviluppo successivo, almeno nei tessuti periferici (Moore et al., 2017). Oltre questi studi retrospettivi, gli effetti dell'ambiente sociale sui livelli di metilazione del DNA dei bambini sono stati indagati in relazione all'ambiente prenatale. L'ambiente prenatale, nel contesto dell'epigenetica comportamentale, è inteso come la presenza di fattori stressanti durante la gravidanza ma anche come la presenza di sintomatologia psicopatologica nella madre durante la gravidanza. In breve, lo studio dell'ambiente prenatale si fonda sul concetto di programmazione precoce, basato su studi epidemiologici che suggeriscono che un ambiente fetale avverso si associ in età adulta con disturbi cardiovascolari e metabolici (Barker, 1998; Barker & Osmund, 1986). Questo aumento del rischio di malattie in età adulta è stato attribuito alle risposte fetali ai cambiamenti dell'ambiente intrauterino (Gluckman et al., 2008; Godfrey & Barker, 2001). Uno dei primi studi condotti su questo tema ha mostrato che la depressione materna prenatale risulta essere associata ad un aumento della metilazione del promotore GR 1F nei campioni di sangue fetale e che questi modelli di metilazione hanno predetto la reattività dell'HPA nei bambini a 3 mesi di età (Oberlander et al. 2008). Coerentemente, neonati nati da donne depresse durante il secondo trimestre presentano significative differenze di metilazione nel trasportatore della serotonina (SLC6A4), sebbene questa differenza di metilazione non sia associata all'esposizione ai farmaci antidepressivi (SSRI) (Devlin et al., 2010). Uno studio longitudinale di larga scala condotto quest'anno (Cardenas et al. 2019) ha riportato che i neonati che sono stati esposti agli antidepressivi durante la gravidanza mostravano una riduzione della metilazione del DNA nel gene ZNF575; questa associazione persisteva nella primissima infanzia (attorno ai tre anni circa) ma non più avanti nello sviluppo (attorno ai sette anni di età).

Tuttavia, nonostante gli effetti delle prime avversità negli studi sugli esseri umani sembrano essere in linea con gli studi provenienti dalle evidenze iniziali sui modelli animali, non è ancora chiarito fino a che punto questi cambiamenti epigenetici catturino le specificità dell'esperienza tra genitore e bambino. Uno studio recente, molto interessante, condotto da Conradt (2016) ha indagato se la responsività materna potesse attenuare gli effetti dei sintomi depressivi della madre sulla metilazione del DNA del gene GR e sul funzionamento neuroendocrino del bambino. Lo studio prevedeva l'utilizzo della procedura *Still-Face* (vedi in nota precedente) per indagare la responsività materna e le risposte allo stress del bambino. I bambini, di circa quattro mesi, con madri depresse ma che mostravano una maggiore

responsività durante la fase di gioco avevano più bassi livelli di metilazione del gene GR, in confronto ai figli di madri depresse e meno responsive. I risultati potrebbero indicare che la sensibilità materna possa svolgere una funzione di mediatore, attenuando gli effetti dell'esposizione alla depressione materna sui geni che regolano il sistema neuroendocrino del bambino e sulla reattività stessa dell'asse ipotalamo-surrene (HPA) (*Ibidem*).

In effetti, come scritto in precedenza, gli studi sui modelli animali hanno mostrato che la predisposizione della madre a rispondere ai segnali del piccolo attraverso variazioni nella frequenza di cure è associata a cambiamenti nell'espressione genica. Una possibilità intrigante potrebbe essere che il contatto nelle prime fasi di vita possa modellare lo sviluppo dei percorsi neurobiologici attraverso la neuroplasticità dipendente dall'esperienza (Moore & Depue, 2016). Come è noto, lo sviluppo postnatale nelle prime fasi di vita è un periodo di elevata plasticità in risposta alle esperienze esterne, che prevede un "periodo critico", in cui le esperienze esterne hanno la possibilità di sortire effetti intensi e, a volta, irreversibili sullo sviluppo dei circuiti neurali (Fox et al., 2010). L'esperienza di una maggiore frequenza di contatto potrebbe aumentare le esperienze di ricompensa e conforto, rafforzando quei percorsi e circuiti neurobiologici che rispondono alle ricompense e ai legami sociali (Moore et al, 2017). Inoltre, l'esperienza di contatto, attraverso il ben documentato rilascio di ossitocina (Crockford et al., 2014; Taylor, 2006), antagonista del cortisolo, porta una riduzione dello stress e potrebbe influire sulla capacità di regolazione della reattività allo stress, in modo tale che i caregiver potrebbero essere interpretati come fonti di supporto e conforto di fronte ai pericoli (Champagne, 2008). Potrebbe essere che gli elevati livelli di sicurezza, calma e gratificazione sperimentate in conseguenza delle cure rafforzino e scalfiscano nel cervello in via di sviluppo l'esperienza di quel contatto ripetuto, in modo da facilitare il successivo funzionamento sociale e l'autoregolazione (Moore et al, 2017).

Moore e colleghi (2017) hanno cercato di verificare gli effetti delle stimolazioni tattili ripetute da parte dei genitori sull'espressione genica dei bambini. In questo intrigante studio, la quantità di contatto fisico tra madre e bambino era riportata tramite un diario giornaliero e veniva associata con eventuali modificazioni epigenetiche di quattro geni target normalmente riferiti a competenze sociali: il gene GR, il gene del recettore degli oppioidi OPRM1, del recettore dell'ossitocina OXTR e del fattore neurotrofico BDNF. Il diario sulle frequenze del contatto fisico veniva raccolto a cinque settimane di vita del bambino per tre giorni consecutivi mentre le variazioni epigenetiche venivano osservate a 4 anni di età. Sebbene nessun sito di metilazione del DNA dei geni candidati sia stato trovato significativamente associato al contatto postnatale, gli autori hanno utilizzato una specifica

misura dell'età epigenetica⁶ trovando che i neonati che avevano ricevuto un basso numero di contatto fisico da parte dei caregiver mostravano una maggiore sofferenza durante l'infanzia ed essa era associata ad un'età epigenetica minore. Questi risultati suggeriscono che il primo contatto postnatale sembra avere delle associazioni durature con le traiettorie biologiche dello sviluppo (Moore et al., 2017).

2.3.4. Oltre la diade: effetti epigenetici delle interazioni con il padre sul sistema nervoso in via di sviluppo

Similmente a quanto si è visto accadere nel precedente capitolo sulle teorie psicoanalitiche, anche negli studi sulle interconnessioni tra le relazioni sociali precoci e i cambiamenti neurobiologici e epigenetici il centro focale delle ricerche sono state le interazioni tra la madre e il piccolo, tralasciando la figura del padre. Naturalmente, il fatto che la maggior parte degli studi è stata condotta su modelli murini giustifica almeno in parte l'assenza della figura paterna, in quanto i ratti e i topi non sono animali biparentali. Negli studi sugli umani, probabilmente, aggiungere una terza persona con le proprie caratteristiche e influenze, includerebbe un ulteriore livello di complessità che, considerate le prime evidenze sporadiche che abbiamo, renderebbe ancora più difficile comprendere il fenomeno.

Tuttavia, negli esseri umani, le influenze culturali e le condizioni economiche stanno portando a cambiamenti nella visione della paternità e del reale coinvolgimento del padre nella cura dei bambini in vari aspetti dell'assistenza all'infanzia (Marsiglio et al., 2000). Ai fini della presente trattazione, è interessante tratteggiare le evidenze scientifiche in relazione all'intrigante tema delle influenze paterne sui meccanismi epigenetici. Brevemente, negli esseri umani, l'assenza del padre espone i bambini a una serie di rischi per lo sviluppo fisico e psicologico e si traduce in un rischio maggiore di psicopatologia (Amato, 1994; Grossmann et al., 2002). La privazione della figura paterna generalmente prevede tassi più elevati di disturbi della condotta, delinquenza, abuso di sostanze e violenza nell'adolescenza (Ember

⁶ L'età epigenetica o "orologio epigenetico" è un particolare metodo biochimico di misurazione dell'età, che si basa sui livelli di metilazione del DNA. L'orologio epigenetico è definito come un metodo di stima dell'età basato su 353 marcatori epigenetici sul DNA. I 353 marcatori misurano la metilazione del DNA dei dinucleotidi CpG. L'età stimata, indicata anche come età della metilazione del DNA, ha le seguenti proprietà: in primo luogo, è vicina allo zero per le cellule staminali pluripotenti embrionali; secondo, si correla con il numero di passaggi di duplicazione cellulare; terzo, dà origine a una misura altamente ereditabile dell'accelerazione dell'età. La crescita organica (e la relativa divisione cellulare) porta ad un aumento del ticchettio dell'orologio epigenetico che rallenta in modo costante (dipendenza lineare) dopo l'età adulta (circa 20 anni) (Horvath, 2013). Inoltre, l'età della metilazione del DNA nel sangue prevede la mortalità associata a tutte le cause nel corso della vita, anche dopo aver corretto per i fattori di rischio noti (Chen et al., 2016)

& Ember, 1994), è associata con iperattività dell'HPA e una maggiore sensibilità ai fattori di stress, portando ad una maggiore suscettibilità alle malattie (Flinn & England, 1997; Phares & Compas, 1992). Sebbene queste associazioni siano convincenti, è importante notare l'interpretazione di questi risultati potrebbe essere confusa dai fattori socioeconomici e culturali che spesso coincidono con l'assenza paterna.

I modelli animali, da questo punto di vista rendono più semplice identificare le relazioni tra il ruolo della figura paterna e gli outcome psicobiologici dei cuccioli. Nei mammiferi, diverse specie di primati e roditori presentano un comportamento paterno (Kentner et al., 2010). Il comportamento del padre può essere classificato come investimento diretto e indiretto nella sopravvivenza e nello sviluppo della prole (Kleiman & Malcolm, 1981). Nei roditori, gli investimenti diretti possono includere comportamenti di cure postnatali dei cuccioli, come i comportamenti di LG o di gioco, mentre gli investimenti indiretti comprendono l'acquisizione di risorse nutrizionali, la costruzione e la pulizia del nido, la manutenzione del territorio e la difesa contro gli intrusi (Braun & Champagne, 2014). Gli studi incentrati sulla qualità del comportamento paterno in diverse specie biparentali di roditori riportano che, ad eccezione dell'allattamento, i padri mostrano un repertorio comportamentale di cure genitoriali simile a quello della madre. Tuttavia, negli stili interazionali dei padri potrebbero esserci delle differenze specifiche. Ad esempio, negli umani, rispetto al modo di giocare delle madri, i padri sembrano intraprendere con più frequenza attività fisiche impegnative e giochi imprevedibili, contribuendo in modo specifico alla sicurezza dell'attaccamento dei bambini e aiutandoli a sviluppare adeguati meccanismi di controllo emotivo, riducendo il comportamento aggressivo (Wilson & Prior, 2011). Nei modelli animali di specie biparentali (*octodon degus*) l'assenza delle cure postnatali da parte del padre è associata con una riduzione delle spine sinaptiche eccitatorie nella corteccia orbitofrontale, che è coinvolta nell'integrazione sensoriale, nella pianificazione, nei processi decisionali e nell'aspettativa di ricompensa e punizione (Helmeke et al., 2009; Ovtscharoff et al., 2006) e con un minor numero di sinapsi della colonna vertebrale nella corteccia somatosensoriale, suggerendo una specificità della stimolazione somatosensoriale fornita dal contatto con il corpo paterno (Pinkernelle et al., 2009). In generale, sembrerebbe che, nei modelli animali, l'assenza del padre produca un effetto sulla densità sinaptica e sulla plasticità neurale (Pinkernelle et al., 2009; Bredy et al., 2007), nonché su modifiche nella trasmissione dopaminergica e glutamatergica associati a cambiamenti comportamentali (Bambico et al., 2013; Yu et al., 2012). Inoltre, la riduzione sperimentale dei comportamenti di grooming paterno induce un aumento della vasopressina-

immunoreattiva nel nucleo paraventricolare e un aumento del corticosterone (Birnie et al., 2013). Questi cambiamenti neuroendocrini sono coerenti con le manifestazioni fenotipiche, in cui si osserva un aumento del comportamento simile all'ansia e un'alterazione nelle interazioni sociali nella prole privata del padre (Yu et al., 2012).

Sebbene, come riportato sembra che le cure postnatali da parte del padre possano modulare lo sviluppo comportamentale e neurobiologico della prole nei mammiferi biparentali, un altro modo in cui il padre sembra influenzare la prole è attraverso l'ereditarietà di cambiamenti epigenetici. Questa intrigante ipotesi è stata verificata su specie monoparentali in cui non c'era contatto tra i padri e la loro progenie, e tali specie erano isogeniche per cui il fenomeno di trasmissione epigenetica, con molta probabilità, non era attribuibile al patrimonio genetico ereditato (Braun & Champagne, 2014). È stato osservato che, nonostante la riprogrammazione epigenetica a livello del genoma si verifica precocemente durante le fasi di sviluppo successive alla fecondazione (Morgan et al., 1999), in alcuni loci all'interno del genoma, potrebbe esserci un "mantenimento" delle variazioni epigenetiche paterne che riesce a trasmettersi alle generazioni successive (Lane et al., 2003; Ashe et al., 2012; Morgan & Blade, 2011). Sembrerebbe, dunque, che i geni portatori di segni epigenetici possano essere trasmessi alle generazioni successive, mantenendo l'informazione epigenetica sul silenziamento dell'espressione genica (Braun & Champagne, 2014). Negli esseri umani, è stato riportato che la presenza di diagnosi di disturbo posttraumatico (PTSD) nel padre era associato ad una maggiore metilazione del promotore GR-1F, in assenza di PTSD materno, suggerendo che ci siano diversi meccanismi per la trasmissione intergenerazionale delle vulnerabilità legate al trauma (Yehuda et al., 2014). Rispetto all'influenza del comportamento del padre, in studi sugli esseri umani, la letteratura è ancora carente. Molti studi hanno riportato l'influenza epigenetica paterna nella programmazione prenatale in relazione alla dieta del padre (Dunford & Sangster, 2017), all'età (Malaspina, 2001; Green et al., 2010) e l'uso di sostanze (Nieto & Kosten, 2019). Un recente studio, che ha analizzato la relazione tra psicopatologia dei genitori e espressione genica dei bambini in età scolare, ha riportato come la metilazione del gene che codifica per il trasportatore della dopamina (DAT) dei figli sia predetta dalla severità dei sintomi psicopatologici del padre (Cimino et al., 2018). Nel complesso, nonostante tradizionalmente gli studi dell'influenza genitoriale sulla prole si sono concentrati sulle cure materne, gli studi presentati sull'influenza del padre sugli *outcome* neurobiologici e comportamentali dei figli mostrano che sia necessaria una comprensione più integrata delle interazioni genitore-prole. Sebbene le condizioni controllate degli studi di laboratorio abbiano la loro utilità nel chiarire

i meccanismi, sarebbe necessario includere condizioni più rilevanti ecologicamente nello studio dell'influenza paterna per promuovere la comprensione delle dinamiche dell'ambiente sociale, della cascata di eventi che derivano dalle variazioni nelle cure paterne e modulano, attraverso meccanismi epigenetici, le traiettorie di sviluppo, che, inoltre, sembrano essere trasmesse alle generazioni successive (Braun & Champagne, 2014).

Capitolo III

Evidenza empirica

“Dig down to nothing and come up with everything”
(C.H. Waddington, *The Strategy of the Genes*, 1957)

Come riportato nei capitoli precedenti le differenze individuali nelle traiettorie di sviluppo sono influenzate dall'interazione tra il patrimonio genetico ereditato e il contesto ambientale (Sameroff, 2010). L'ambiente sociale fornisce al bambino le competenze relazionali sulle quali egli modellerà la sua interazione con l'ambiente stesso (Sameroff, 2010). I neonati mostrano molto presto notevoli capacità nell'individuare regolarità nelle esperienze relazionali e nel formarsi aspettative su di esse (Cecchini et al., 2013). È stato riportato come già immediatamente dopo la nascita, stimolazioni tattili con diversi livelli di contingenza possano influenzare l'organizzazione degli stati comportamentali del neonato e potrebbero avere un ruolo importante anche nell'elaborazione degli stati affettivi (Cecchini et al., 2013). Le madri che percepiscono e rispondono accuratamente ai bisogni e agli sforzi comunicativi del bambino, promuovono lo sviluppo delle abilità socio-comunicative nel neonato, laddove lo stress e la presenza di depressione post-partum della madre è associata ad un ritardo nell'acquisizione di tali competenze (Valla et al., 2016). Inoltre, lo sviluppo cognitivo e sociale del bambino e lo stile di interazione tra egli e la madre sembrano essere influenzati dal tipo di attaccamento della madre al feto durante le ultime settimane di gravidanza (Punamäki et al., 2017). Le evidenze provenienti da studi su modelli animali suggeriscono un rapporto diretto tra le naturali variazioni nelle cure materne e gli effetti a lungo termine sui sistemi neurali in via di sviluppo che regolano lo stress, le funzioni emotive e la neuroplasticità (Champagne & Curley, 2011). Studi condotti su modelli animali e studi epidemiologici condotti sull'uomo mostrano effetti persistenti delle esperienze negative precoci e delle variazioni nello stile di *parenting* sulla maturazione dei sistemi neurali (Champagne & Curley, 2011). Tali effetti neurobiologici sono sensibili alla qualità delle interazioni tra la madre e il suo piccolo e sono mediati da cambiamenti epigenetici nel cervello in via di sviluppo (McGowan et al., 2011). Uno studio condotto su modelli animali, che indagava i cambiamenti epigenetici nel periodo perinatale, suggerisce che la risposta epigenetica alla cura materna non solo coinvolge singoli promotori di gene candidati, ma comprende sequenze trascrizionali e intrageniche specifiche (McGowan et al., 2011). Uno studio recente condotto su neonati mostra come i bambini di madri depresse e meno

responsive mostrino più bassi livelli di metilazione del gene che codifica per il cortisolo rispetto ai bambini con madri depresse ma più responsive, indicando come la sensibilità materna possa svolgere una funzione di mediatore, attenuando gli effetti dell'esposizione alla depressione materna sui geni che regolano il sistema neuroendocrino del bambino e sull'asse ipotalamo-surrene (HPA) stesso (Conradt et al., 2016). Le naturali variazioni nelle cure materne in modelli animali sono state associate a differenti livelli di espressione di alcuni geni target specifici (ad es. Peña et al., 2014; Weaver et al., 2004). Uno studio recente, condotto su neonati umani, ha mostrato come la maggiore presenza di contatto fisico tra genitore e bambino, riportata a cinque settimane di vita tramite un diario giornaliero per tre giorni consecutivi, fosse associata, non a diversi livelli di metilazione dei geni target considerati, ma ad un'età epigenetica minore (Moore et al., 2017). Questi risultati suggeriscono che il primo contatto postnatale sembri avere delle associazioni durature con le traiettorie biologiche dello sviluppo attraverso meccanismi di funzionamento globali nella regolazione dell'espressione genica.

Ad oggi non sono presenti studi che abbiano indagato la relazione tra i livelli di metilazione globale del DNA e le variabili psicologiche e relazionali nel periodo perinatale.

Lo scopo generale del progetto è stato quello di indagare se le interazioni sociali e le caratteristiche psicologiche dei genitori, sin dalla nascita, fossero correlate a cambiamenti nel livello globale di metilazione del DNA.

I principali obiettivi del progetto sono stati:

1. Indagare se, dalla nascita fino al primo mese di vita, una minore reciprocità dell'interazione tra genitore e neonato fosse associata a maggiori livelli di metilazione globale del DNA;
2. Esplorare gli effetti della sintomatologia psicopatologica materna sulla metilazione globale del DNA propria e del neonato;
3. Esplorare gli effetti della sintomatologia psicopatologica paterna sulla metilazione globale del DNA del neonato.

3.2. Metodo

3.2.1. Partecipanti

Dopo aver ottenuto l'approvazione da parte del Comitato Etico dell'ASL Roma 1 (Prot. N. 324) e aver ottenuto la firma del consenso informato da parte di entrambi i genitori (Appendice 1), sono stati reclutati i neonati con i rispettivi i genitori. Il reclutamento ha

avuto luogo presso i reparti di Ostetricia e Ginecologia e di Neonatologia del Presidio Ospedaliero Santo Spirito in Sassia di Roma. I criteri d'inclusione erano: per la madre, età tra i 25 e i 40 anni; assenza di problemi mentali o fisici; per il padre, età tra i 25 e i 40 anni; assenza di problemi mentali o fisici; per il neonato, peso alla nascita maggiore di 2000 gr.; indice Apgar al primo minuto compreso tra 8 e 10, e al quinto minuto tra 9 e 10; età gestazionale compresa tra le 37 e le 42 settimane. I criteri d'esclusione erano: per la madre, età minore di 25 e maggiore di 45 anni, presenza di problemi mentali o fisici, complicazioni durante il parto, uso di alcol o droghe; per il padre, età minore di 25 e maggiore di 50 anni, presenza di problemi mentali o fisici, uso di alcol o droghe; per il neonato, peso alla nascita inferiore di 2000 gr., indice Apgar al primo minuto minore di 8 e al quinto minuto minore di 9; età gestazionale minore di 37 settimane e maggiore di 42.

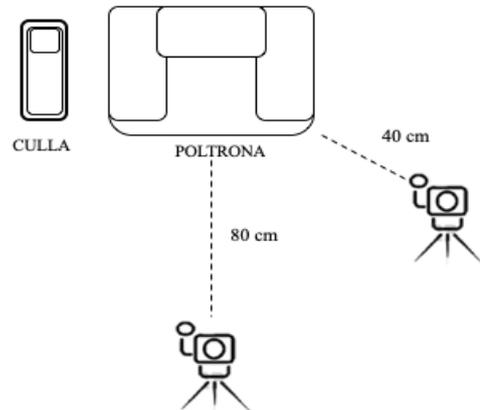
3.2.2. Procedura

Lo studio prevedeva tre tempi, eseguiti in ospedale: il Tempo 0 (il giorno prima del parto), il Tempo 1 (due giorni dopo il parto) e il Tempo 2 (al primo mese di vita del bambino). Il tempo 0 veniva eseguito il giorno prima del parto. In questa fase, i genitori sono stati invitati a firmare il consenso informato, a compilare una scheda anamnestico e completare le seguenti scale: "Perceived Stress Scale", "Prenatal Attachment Inventory-PAI" (per le madri) e "Paternal Antenatal Attachment Scale-PAAS" (per i padri).

Nel Tempo 1, due giorni dopo il parto, veniva video-registrata l'interazione tra la madre e il neonato durante l'alimentazione (durata 10 minuti). In questa sessione, la madre riceveva la seguente consegna: "Adesso le chiederò di sedersi su questa sedia e di allattare sua/o figlia/o come farebbe naturalmente, per 10 minuti. Durante l'interazione con sua/o figlia/o verrà videoregistrata dalle telecamere che vede. Lei potrà decidere di interagire con sua/o figlia/o come preferisce durante questi 10 minuti, l'importante è che rimanga seduta. Io rimarrò qui per il tempo della registrazione, lei faccia finta che io non ci sia. Le chiedo gentilmente di non interagire con me, a meno che non senta di voler interrompere definitivamente la procedura. Appena è pronta, iniziamo la registrazione.".

Prima delle videoregistrazioni, per evitare contaminazioni dovute all'alimentazione, veniva prelevato una campione di cellule epiteliali sia dai genitori che dal neonato, tramite l'utilizzo di un tampone buccale. Dopo le videoregistrazioni, sono state somministrate la "Symptoms Check List-SCL90" e la "Toronto Alexithymia Scale" ad entrambi i genitori.

Il Tempo 2 veniva eseguito al primo mese di vita del bambino, quando i genitori tornavano in ospedale per i controlli di routine. In questa fase dello studio, si ripeteva la videoregistrazione dell'interazione tra la madre e il neonato durante l'alimentazione (10 minuti) con le stesse consegne del Tempo 1 e venivano somministrati alla madre l'”Edinburgh Postnatal Depression Scale”, la “Perceived Stress Scale” e l'”Attachment Style Questionnaire”. Al padre venivano somministrate la “Perceived Stress Scale” e l'”Attachment Style Questionnaire”. Anche in questa fase, un campione di cellule epiteliali veniva raccolto da entrambi i genitori e dal neonato prima delle videoregistrazioni (Tabella 1).



Le videoregistrazioni previste nel Tempo 1 e nel Tempo 2 avvenivano in una specifica stanza preposta dall'ospedale per l'allattamento, in

Figura 8. Disposizione delle telecamere per la ripresa delle interazioni

cui i genitori venivano condotti singolarmente dallo sperimentatore. In questa stanza era presente una poltrona, in cui la madre era invitata a sedersi, e venivano posizionate due telecamere: una delle telecamere era posta frontalmente rispetto alla poltrona (circa a 80 cm di distanza) e l'altra era posta con un angolo di circa 45° rispetto alla poltrona, in modo tale da poter inquadrare contemporaneamente il volto della madre e del bambino (circa a 40 cm di distanza) (Figura 8).

Tabella 1.

Analisi dimensionale dello studio

	T0 (Il giorno prima della nascita)	T1 (2 giorni dopo la nascita)	T2 (1 mese di età del bambino)
Neonato		Raccolta di campione biologico (tampone buccale)	Raccolta di campione biologico (tampone buccale)
Madre	Consenso informato; Scheda anamnestica; Prenatal Attachment Inventory (PAI); Perceived Stress Scale (PSS).	Raccolta di campione biologico (tampone buccale) Symptoms Check List (SCL-90); Toronto Alexithymia Scale (TAS-20).	Raccolta di campione biologico (tampone buccale) Edinburgh Postpartum Depression Scale (EPDS); Perceived Stress Scale (PSS); Attachment Style Questionnaire.
Padre	Consenso informato; Scheda anamnestica; Paternal Antenatal Attachment Scale (PAAS); Perceived Stress Scale (PSS).	Raccolta di campione biologico (tampone buccale) Symptoms Check List (SCL-90); Toronto Alexithymia Scale (TAS-20).	Raccolta di campione biologico (tampone buccale) Perceived Stress Scale (PSS); Attachment Style Questionnaire.
Madre e Neonato		Alimentazione (10 min).	Alimentazione (10 min).

3.2.3. Strumenti

- Valutazione psicologica dei genitori

Prenatal Attachment Inventory (PAI)

Il Prenatal Attachment Inventory (PAI) è una misura self-report per la valutazione dell'attaccamento materno al proprio feto, è composta da 21 item di tipo Likert con modalità ordinate da 1 ("quasi mai") a 4 ("quasi sempre"), dove alti punteggi indicano un alto livello di attaccamento prenatale (Müller, 1993). L'analisi fattoriale ha identificato cinque fattori: il primo, "Fantasia", contiene elementi come "Sogno il mio bambino"; il secondo, "Interazione", è costituito da item come "posso far muovere il mio bambino"; il terzo, "Affetto", presenta item come "amo il mio bambino"; il quarto, "Differenziazione sé-feto", è costituito da item come "immagino di chiamare il bambino per nome" e "lascio che altre persone mettano le mani sulla pancia per sentire il bambino muoversi"; il quinto, "Sensibilità materna al feto", contiene item come "Penso che il mio bambino abbia già una personalità" (Della Vedova et al., 2008). Il PAI mostra una buona consistenza interna mostrando un coefficiente α di Cronbach di .86 (Siddiqui et al., 1999).

Paternal Antenatal Attachment Scale (PAAS)

Il PAAS è stato sviluppato da Condon (1993) ed è una misura self-report per la valutazione dell'attaccamento paterno al futuro bambino. Gli item sono classificati su una scala Likert a cinque punti che varia da 1 a 5, con un intervallo di punteggio totale di 16–80 per il Global Attachment Score (GAS). L'analisi fattoriale esplorativa ha identificato due sottoscale: la qualità dell'attaccamento (QA), che si riferisce alla qualità dell'esperienza emotiva (ad es. Felicità / tristezza), e intensità dell'attaccamento (IA), che si riferisce al tempo trascorso a pensare a stati d'animo e comportamenti connessi all'attaccamento (ad es. Quanto tempo trascorso a immaginare il feto). Punteggi più bassi indicano un minor attaccamento prenatale. Il PAAS mostra una buona consistenza interna mostrando un coefficiente α di Cronbach di 0.80 (Condon, 1993).

Perceived Stress Scale (PSS)

La Perceived Stress Scale (PSS) (Cohen, 1994) è uno degli strumenti psicologici più utilizzati per misurare la percezione dello stress. È una misura self-report composta da 10 item che indagano quanto le situazioni della propria vita siano valutate come stressanti. Gli item sono stati progettati per cogliere quanto gli intervistati percepiscano come imprevedibile, incontrollabile e sovraccarica la propria vita. La scala include anche una serie

di domande dirette sui livelli attuali di stress. Le domande nel PSS si riferiscono all'ultimo mese. Il PSS mostra una buona consistenza interna mostrando un coefficiente α di Cronbach compreso tra 0.84-0.86 (Cohen, 1988).

Symptom Checklist 90 Revised (SCL-90-R)

La Symptom Checklist 90 Revised (SCL-90-R) è una scala self-report di 90 item per la valutazione dei sintomi psicologici (Derogatis, 1983). La SCL-90-R valuta il distress psicologico in termini di nove dimensioni e tre punteggi riepilogativi che definiscono i punteggi globali. Le dimensioni principali sono la somatizzazione (SOM), l'ossessivo-compulsivo (OBS), la sensibilità interpersonale (INT), la depressione (DEP), l'ansia (ANX), l'ostilità (HOS), l'ansia fobica (PHOB) e lo psicoticismo (PSY). Sono presenti anche sette item addizionali (OTHER) che valutano disturbi dell'appetito e del sonno. Le misure globali sono definite come l'indice di gravità globale (GSI), l'indice di distress positivo dei sintomi (PSDI) e il valore positivo del sintomo totale (PST). Il punteggio è su una scala Likert da 1 a 5 punti. La consistenza interna è risultata con α di Cronbach compresa tra 0.74 e 0.98 (Sereda & Dembitskyi, 2016).

Toronto Alexithymia Scale - 20 (TAS-20)

La Toronto Alexithymia Scale - 20 (TAS-20) è la misura più utilizzata per la valutazione dell'alessitimia. Si tratta di una scala di self-report, composta da 20 item. Gli item sono valutati utilizzando una scala Likert da 1 a 5. L'alessitimia si riferisce a una condizione psicologica in cui è presente una ridotta consapevolezza emotiva e un'incapacità sia di riconoscere sia di descrivere verbalmente i propri stati emotivi e quelli altrui. La TAS-20 risulta avere tre fattori: difficoltà a descrivere i sentimenti (F1); Difficoltà a identificare i sentimenti (F2); Pensiero orientato all'esterno (F3). La struttura a 3 fattori è risultata teoricamente congruente con il costrutto alessitimia (Bagby et al., 1994). Il punteggio totale è dato dalla somma delle risposte a tutti i 20 item. La TAS-20 dimostra una buona coerenza interna con α di Cronbach di 0.81 (Bagby et al., 1994).

Attachment Style Questionnaire (ASQ)

L' Attachment Style Questionnaire (ASQ) è una scala self-report di 40 item, classificati su una scala Likert da 1 a 6, per valutare lo stile di attaccamento nell'età adulta (Feeney et al., 1994). La scala presenta una soluzione a cinque fattori: fiducia (in se stessi e negli altri) (ad es.: "Sono fiducioso che altre persone saranno lì per me quando ne avrò bisogno"); Disagio

con la vicinanza ("Trovo difficile dipendere dagli altri"); Secondarietà delle relazioni ("Raggiungere gli obiettivi è più importante che costruire relazioni"); Bisogno di approvazione ("Per me è importante che piaccia agli altri"); Preoccupazione per le relazioni ("Mi preoccupo molto delle relazioni"). Uno studio precedente (Feeney et al., 1994) ha dimostrato che l'ASQ ha dimostrato elevati livelli di coerenza interna (alfa di Cronbach = 0,80) e affidabilità di test-test su un periodo di dieci settimane ($r = 0,76$).

Edinburgh Postnatal Depression Scale (EPDS)

L'Edimburgo Postnatal Depression Scale (EPDS) è una misura self-report di 10 domande di screening della depressione post-partum e fa riferimento al periodo dell'ultima settimana. Il punteggio totale dalla somma di ciascuno dei 10 item. Un punteggio maggiore di 10 indica la possibile presenza di sintomi depressivi post-partum. L'affidabilità complessiva (alfa di Cronbach) dell'EPDS risulta essere di 0,79 (Kheirabadi et al., 2012).

- Valutazione dell'interazione madre-bambino

Feeding Interaction Scale - Scala di Valutazione dell'Interazione Alimentare Madre-Bambino (SVIA)

La Feeding Scale-Observational Scale for Mother-Infant Interaction during Feeding è una Scala di osservazione e valutazione delle dinamiche interattive madre-bambino nel contesto dell'alimentazione, creata da Irene Chatoor (1998). L'adattamento italiano della Scala (Scala di Valutazione dell'Interazione Alimentare Madre-Bambino- SVIA) è composto da 41 item che valutano i comportamenti della madre e del bambino ed è suddiviso in 4 sottoscale: (1) *Stato Affettivo della Madre*; (2) *Conflitto Interattivo*; (3) *Comportamenti di Rifiuto Alimentare del bambino*; (4) *Stato Affettivo della Diade* (Ammaniti et al., 2006). Le videoregistrazioni delle interazioni tra la madre e il bambino durante l'alimentazione sono state codificate da due codificatori esperti.

- Raccolta dati biologici

Il materiale biologico per la valutazione successiva dei livelli di metilazione del DNA dei partecipanti (sia genitori che neonati) è stato raccolto attraverso tamponi buccali (Isohelix Swab Pack). Il campionamento delle cellule buccali è un metodo non invasivo che produce risultati attendibili (Torrone et al., 2012). I soggetti erano consapevoli di non dover mangiare, bere (ad eccezione dell'acqua), fumare e lavarsi i denti per almeno 1 ora prima del campionamento. I campioni di cellule epiteliali sono stati accuratamente raccolti attraverso

i tamponi buccali che venivano tenuti in bocca per 1 minuto, in accordo alle istruzioni del produttore. I campioni biologici venivano successivamente trasportati, leggermente refrigerati da ghiaccio normale (+ 4 ° C), ai laboratori del Dipartimento di Scienze Chirurgiche Mediche e Biotecnologie dell'Università di Roma "Sapienza" per la conservazione e le prime analisi sui polimorfismi e successivamente erano inviati ai laboratori della Fondazione Santa Lucia dove venivano analizzati i livelli di metilazione.

3.2.4. Analisi dei dati

Analisi dei livelli di metilazione globale del DNA

Per l'analisi dei livelli di metilazione globale del DNA è stato utilizzato il protocollo Dot Blot (Figura 9). Il protocollo Dot Blot viene utilizzato per quantificare il livello globale di metilazione dei CpG del DNA in campioni multipli (Clementi & Benhattar, 2005).

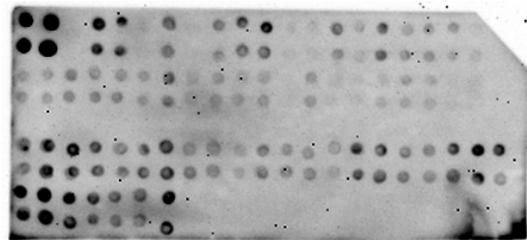


Figura 9. Esempio del metodo "Dot Blot" per la quantificazione del livello di metilazione dei siti CpG del DNA.

Prima di iniziare la procedura, ci si è premurato di avere a disposizione gli standard positivi e

negativi per creare la curva da cui estrarre le concentrazioni di DNA. Gli anticorpi utilizzati sono stati il GTX629448 5-methylcytosine [GT4111], il GTX629701 5-hydroxymethylcytosine [GT513] e il GTX400004 Methylated cytosine DNA standard kit. I "TIPS" utilizzati sono stati i seguenti:

Blocking solution: Milk 5% in TBST (TBS 1x + 0,1% Tween 20); Anticorpo primario: 5-mc, diluito 1:1000 nella blocking solution; Anticorpo secondario: anti-mouse, diluito 1:5000 in TBST.

La procedura ha previsto i seguenti passaggi:

1. Quantificare i campioni di DNA di interesse;
2. Trasferire 5ul di DNA in una vial;
3. Denaturare i campioni di DNA a 99°C per 5 min (thermo plate MT), dopodiché metterli in ghiaccio;
4. Selezionare le giuste dimensioni della membrana in nylon a carica elettrostatica;
5. Spottare 1ul di campione in duplicato sulla membrana
6. UV cross-link (5000 microJoules, fornello Sette);
7. Mettere la membrana nella blocking solution per 30min (RT) sul basculante;
8. Incubazione overnight della membrana nell'anticorpo primario a 4°C su un basculante (gentle; shaking);
9. Fare 3 lavaggi da 5min l'uno in TBST;
10. Incubare la membrana nell'anticorpo secondario anti-mouse, a room

temperature per 1-2h; 11. Fare 3 lavaggi da 5min l'uno in TBST; 12. Sviluppare la membrana all'i-Bright con ECL (1:1, tempo di sviluppo 1min); 13. Mantenere la membrana in TBS 1x per massimo 24h; 14. Nel caso di segnale troppo basso, ripetere la procedura dal passaggio 8 in poi.

I "TIPS" utilizzati per i-Bright sono stati:

1. Prima di immergere la membrana nell'ECL, lasciare defluire il TBST; 2. incubazione nell'ECL per 1min circa; 3. impostare l'i-Bright su; 4. esposizione a 5 e a 8 min; 5. esportare le immagini in TIFF.

Infine, i passaggi per l'Analisi ImageJ sono stati: 1. Modificare i parametri in egual modo in tutte le figure (image -> adjust -> brightness/contrast); 2. Cambiare il formato immagine (image -> type -> 8bit); 3. Creare un'area di misurazione circolare della grandezza di 0.02, che coincida con i puntini sulla figura; 4. Misurare la densità ottica ponendo il cerchietto sui pallini e premendo CTR+M; 5. Traferire le misure su un foglio xls adeguatamente preparato.

Isolamento del DNA e genotipizzazione

Gli isolamenti del DNA delle cellule buccali sono stati eseguiti utilizzando il kit di isolamento del DNA *Buccal-Prep Plus* (Isohelix ©) in accordo con le istruzioni del produttore. Generalmente si ottengono tra i 3 e i 10 µg di DNA. Le sequenze ripetute dei geni erano amplificate attraverso il metodo della reazione a catena della polimerasi (PCR), come precedentemente descritto da altri autori (Nishitani et al., 2018).

I geni considerati nel presente studio per l'analisi di genotipizzazione sono stati i seguenti:

DAT, gene che codifica per il trasportatore della dopamina, un neurotrasmettitore che risulta fondamentale per il sistema di gratificazione del piacere e della motivazione (ad esempio, Wittmann et al., 2013);

MAOA, gene che codifica per la produzione dell'enzima monoamina ossidasi A, associato all'inibizione comportamentale e alla reattività a condizioni di affetto negativo (ad esempio, Chester et al., 2015);

BDNF, gene che codifica per la produzione del fattore neurotrofico cerebrale, associato alla plasticità neurale (ad esempio, Phillips et al., 2017);

5-HTTLPR, gene che codifica per il trasportatore della serotonina, associato ad una maggiore vulnerabilità agli effetti dello stress sulla cognizione, sull'affetto e sul comportamento (ad esempio, Valderrama & Miranda, 2017).

Analisi statistiche

Prima di procedere con le analisi tra le variabili genetiche e psicologiche, sono state condotte delle analisi di correlazione tra i livelli di metilazione globale del bambino e della madre tra loro e tra essi e i polimorfismi dei geni target considerati.

Sono state, inoltre, eseguite delle analisi correlazionali tra le variabili psicologiche della madre, le variabili della scala SVIA, i livelli di metilazione globale del DNA della madre e quelli del neonato; sono state eseguite delle analisi correlazionali tra le variabili psicologiche del padre e i livelli di metilazione globale del DNA del bambino. Infine, sono state eseguite delle analisi correlazionali tra le variabili psicologiche della madre, con particolare riferimento all'attaccamento prenatale e alla depressione post-partum.

A partire dai risultati delle correlazioni tra le variabili psicologiche dei genitori e i livelli di metilazione globale del DNA del bambino e della madre, sono state eseguite delle regressioni lineari sulle sottoscale del SCL-90 della madre e del padre e della sottoscala "Qualità dell'attaccamento" del PAAS come predittori dei livelli di metilazione globale del DNA del bambino; e sulla sottoscala "Interazione" della scala PAI come predittore dei livelli di metilazione globale del DNA della madre.

Inoltre, allo scopo di cogliere la variazione dei livelli di metilazione globale del DNA del bambino, è stato calcolato il delta tra i livelli di metilazione di T2 e di T1 del bambino ($\Delta T2-T1$). Sono state successivamente eseguite delle analisi di correlazione e di regressione multipla tra il $\Delta T2-T1$ e le variabili psicologiche del padre e della madre. Inoltre, a seconda dalla direzionalità del $\Delta T2-T1$ (se positiva o negativa), la distribuzione del $\Delta T2-T1$ del bambino è stata suddivisa in due, creando un gruppo "aumento della metilazione" e uno "diminuzione della metilazione"; tale variabile è stata chiamata " $\Delta T2-T1$ Bambino dicotomico". Sono state eseguite delle analisi della varianza multivariata (MANOVA) tra i due gruppi ricavati dal " $\Delta T2-T1$ Bambino dicotomico", le scale del SCL-90 e dell'attaccamento prenatale di entrambi i genitori. Inoltre, è stata eseguita un'analisi di regressione non lineare (modello PROBIT) inserendo il " $\Delta T2-T1$ Bambino dicotomico" come variabile dipendente e le scale del SCL-90 e dell'attaccamento prenatale di entrambi i genitori come predittori.

Infine, per verificare la presenza di eventuali variazioni dei livelli di metilazione globale del DNA della madre, è stato calcolato il delta tra i livelli di metilazione di T2 e di T1 della madre, similmente a quanto eseguito per il bambino. Sono, inoltre, state eseguite delle correlazioni esplorative tra il " $\Delta T2-T1$ della madre" e le variabili psicologiche della madre.

In tutte le analisi sono stati considerati come significativi i valori di $p < .05$. Le analisi sono state eseguite utilizzando il software STATISTICA (Statsoft).

3.3 Risultati

Il reclutamento ha avuto la durata di 9 mesi (da Aprile 2018 a Gennaio 2019). Il campione dello studio è risultato essere di 18 neonati, 18 madri e 13 padri al T1 e, a seguito di due drop-out, il campione è di 16 neonati, 16 madri e 13 padri al T2 (Figura 10).

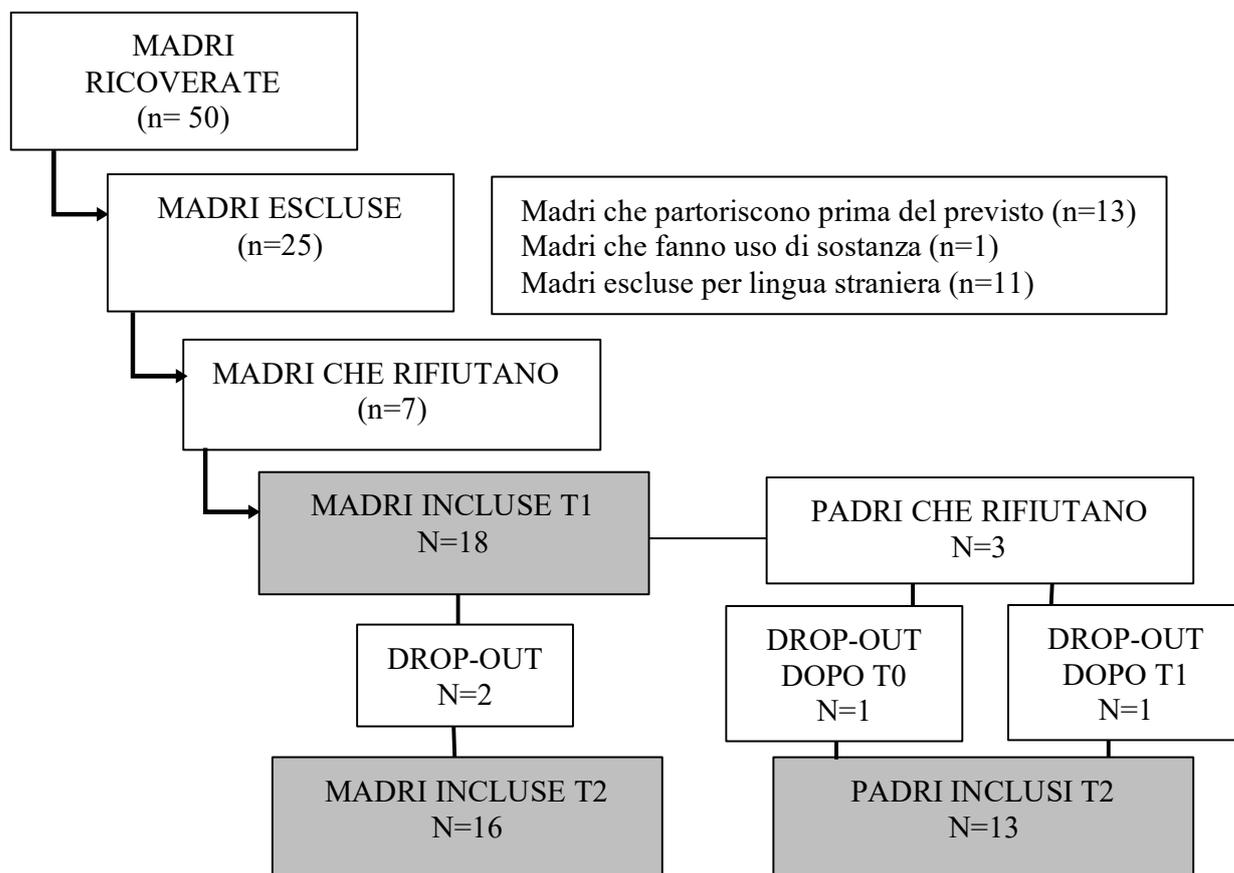


Figura 10. Flow chart del reclutamento dei partecipanti

3.3.1 Analisi descrittive

Tra le 18 coppie genitoriali che hanno preso parte allo studio: 5 hanno avuto il loro primo figlio, 10 il secondo, una il terzo e due il quarto. I dati descrittivi del campione sono riportati in tabella 2.

Tabella 2.

Analisi descrittiva del campione. I dati riportati sono medie e deviazioni standard.

Età madri	34,94 ± 3,45
Età padri	37,25 ± 5,48
Età gestazionale (giorni)	272 ± 0,95
Peso neonati alla nascita (grammi)	3280 ± 579
Apgar 1 minuto	8,78 ± 0,43
Apgar 5 minuto	9,78 ± 0,43
Età bambino T1 (giorni)	2,3 ± 1,19
Età bambino T2 (giorni)	29,8 ± 5,85
Genere neonati (F/M)	8/10
Tipologia parto	2 parti naturali; 16 cesarei
Stato civile	13 sposati; 5 conviventi
Titolo di studio madri	12 laurea; 6 diploma
Titolo di studio padri	5 laurea; 8 diploma; 3 scuola secondaria di I grado; 2 n/a

3.3.2. Analisi tra le variabili genetiche: metilazione globale del DNA e polimorfismi

Nella tabella 3 sono riportate le analisi di correlazione tra le percentuali di metilazione globale del bambino e della madre a T1 e a T2 tra loro, che non risultano essere statisticamente significative.

Tabella 3

Correlazioni (r di Pearson) tra le percentuali di metilazione globale del bambino e della madre a T1 e a T2.

	Metilazione globale DNA - Bambino T1	Metilazione globale DNA - Bambino T2
Metilazione globale DNA - Madre T1	.0175; p=.949	-.1054; p=.698
Metilazione globale DNA - Madre T2	.0338; p=.901	-.1881; p=.485

Nella tabella 4 sono riportate le analisi di correlazione tra le percentuali di metilazione globale del bambino e della madre a T1 e a T2 con i polimorfismi del bambino, della madre e del padre. Per quanto riguarda il bambino, le analisi mostrano una correlazione significativa solamente tra la metilazione globale a T1 e il proprio polimorfismo del trasportatore della dopamina (DAT); mentre, per quanto riguarda la madre le analisi riportano una correlazione tra la metilazione globale a T1 con il proprio polimorfismo del gene MAOA e tra la metilazione globale a T2 con i propri polimorfismi del DAT e del gene che codifica per il trasportatore della serotonina (5-HTT LPR).

Tabella 4

Correlazioni (r di Pearson) tra le percentuali di metilazione globale del bambino e della madre a T1 e a T2 e i polimorfismi del bambino e dei genitori.

	Metilazione globale DNA Bambino T1	Metilazione globale DNA Bambino T2	Metilazione globale DNA Madre T1	Metilazione globale DNA Madre T2
Bambino (nT1= 18; nT2=				
DAT rs28363170	.4767; p=.045	-.0740; p=.785	-.0148; p=.954	.1806; p=.503
MAOA	-.0711; p=.779	-.1617; p=.550	.0063; p=.980	-.1579; p=.559
BDNF rs6265	.0476; p=.851	.3186; p=.229	-.2043; p=.416	-.4574; p=.075
5-HTT LPR	.0901; p=.722	.2642; p=.323	.3496; p=.155	.2747; p=.303
Madre (n T1= 18; nT2=				
DAT rs28363170	.4217; p=.081	-.1114; p=.681	.2427; p=.332	.5161; p=.041
MAOA	.3221; p=.192	-.1844; p=.494	.5101; p=.031	.2030; p=.451
BDNF rs6265	-.1821; p=.470	-.2776; p=.298	.2617; p=.294	.4705; p=.066
5-HTT LPR	-.0673; p=.791	.2657; p=.320	.4263; p=.078	.5562; p=.025
Padre (n T1. T2 = 13)				
DAT rs28363170	-.2039; p=.548	-.1799; p=.597	-.1560; p=.647	-.2244; p=.507
MAOA	.0452; p=.895	.2205; p=.515	.0529; p=.877	-.1066; p=.755
BDNF rs6265	-.0684; p=.842	.2699; p=.422	-.3898; p=.236	-.5947; p=.054
5-HTT LPR	.4016; p=.221	-.3289; p=.323	.3930; p=.232	.4040; p=.218

DAT: trasportatore della dopamina; MAOA: monoamina ossidasi A; BDNF: fattore neurotrofico cerebrale; 5-HTTLPR: trasportatore della serotonina.

3.3.3. Metilazione globale del DNA del bambino e variabili psicologiche dei genitori

Le correlazioni tra la Scala di Valutazione dell'Interazione Alimentare Madre-Bambino (SVIA) a T1 e a T2, l'Attachment Style Questionnaire (ASQ) e i livelli di metilazione globale del DNA del bambino e della madre non mostravano risultati statisticamente significativi (SVIA T1: $.202 < p < .935$; SVIA T2: $.146 < p < .730$; ASQ: $.132 < p < .891$).

Nella tabella 5 sono riportate le analisi di correlazione tra l'attaccamento prenatale materno (Prenatal Attachment Inventory - PAI) e paterno (Paternal Antenatal Attachment Scale - PAAS), lo stress percepito Perceived Stress Scale (PSS) misurati a T0 e T2, il Symptom Checklist-90-R (SCL-90-R) della madre e del padre misurati a T1, la scala Edinburgh Postnatal Depression Scale (EPDS) e le percentuali di metilazione globale nel bambino a T1 e a T2. Da questa tabella si può osservare come i livelli di percentuale di metilazione globale del bambino a T1 correlino solo con alcune variabili del SCL-90 della madre (GSI,

Somatizzazione, Depressione, Ansia), mentre a T2 correlino solo con alcune variabili del SCL-90 del padre (GSI, Somatizzazione, Depressione, Ansia Fobica, Disturbi del sonno) e con la sottoscala Qualità dell'Attaccamento del PAAS.

Tabella 5

Correlazioni (r di Pearson) tra l'attaccamento prenatale materno (Prenatal Attachment Inventory - PAI) e paterno (Paternal Antenatal Attachment Scale - PAAS), lo stress percepito Perceived Stress Scale (PSS) a T0 e T2, il questionario Symptom Checklist-90-R (SCL-90-R) della madre e del padre a T1, la scala Edinburgh Postnatal Depression Scale (EPDS) e le percentuali di metilazione globale nel bambino a T1 e a T2.

	Metilazione globale DNA - Bambino T1	Metilazione globale DNA - Bambino T2
Madre (n T1= 18; nT2= 16)		
Attaccamento prenatale		
PAI Totale	.1339; p= 0.596	.1825; p= 0.499
PAI Fantasia	-.1652; p= 0.512	-.1127; p= 0.678
PAI Interazione	.1415; p= 0.575	.3986; p= 0.126
PAI Affetto	.3697; p= 0.131	.2496; p= 0.351
PAI Differenziazione sé-	.1396; p= 0.581	.0408; p= 0.881
PAI Sensibilità materna	-.0598; p= 0.814	-.0380; p= 0.889
Stress Percepito (PSS) – T0	-.3364; p= 0.172	-.3343; p= 0.206
SCL-90-R GSI	-.5272; p= 0.025	-.1627; p= 0.547
SCL-90-R Somatizzazione	-.5575; p= 0.016	-.1661; p= 0.539
SCL-90-R Oss-Com	-.4588; p= 0.055	-.1322; p= 0.626
SCL-90-R Ipersens. Interpers.	-.3530; p= 0.151	-.1825; p= 0.499
SCL-90-R Depressione	-.5229; p= 0.026	-.1469; p= 0.587
SCL-90-R Ansia	-.6312; p= 0.005	-.2084; p= 0.439
SCL-90-R Ostilità	-.4193; p= 0.083	-.1402; p= 0.605
SCL-90-R Ansia Fobica	-.1559; p= 0.537	-.0709; p= 0.794
SCL-90-R Ideazione Paranoide	-.3348; p= 0.174	-.1987; p= 0.461
SCL-90-R Psicoticismo	-.3897; p= 0.110	-.1838; p= 0.496
SCL-90-R Disturbi sonno	-.2886; p= 0.245	.3501; p= 0.184
Stress Percepito (PSS) – T2	-	-.1226; p= 0.651
Depressione Post-partum-EPDS	-	-.1149; p= 0.672
Padre (n T1, T2 = 13)		
Attaccamento prenatale		
PAAS Totale	-.2264; p= 0.457	-.4844; p= 0.093
PAAS Qualità attaccamento	.0407; p= 0.895	-.6301; p= 0.021
PAAS Intensità	-.3119; p= 0.300	-.2820; p= 0.351
Stress Percepito (PSS) – T0	.0599; p= 0.846	.0229; p= 0.941
SCL-90-R GSI	.1264; p= 0.681	.6917; p= 0.009
SCL-90-R Somatizzazione	.1568; p= 0.609	.7441; p= 0.004
SCL-90-R Oss-Com	-.0231; p= 0.940	-.0533; p= 0.863
SCL-90-R Ipersens. Interpers.	.1632; p= 0.594	-.3007; p= 0.318
SCL-90-R Depressione	.1603; p= 0.601	.6816; p= 0.010
SCL-90-R Ansia	.0681; p= 0.825	.4074; p= 0.167
SCL-90-R Ostilità	.3809; p= 0.199	.5058; p= 0.078
SCL-90-R Ansia Fobica	.2349; p= 0.440	.9901; p= 0.000
SCL-90-R Ideazione Paranoide	-.3461; p= 0.247	.2028; p= 0.506
SCL-90-R Psicoticismo	-.0085; p= 0.978	.3510; p= 0.240
SCL-90-R Disturbi sonno	-.1219; p= 0.692	.7278; p= 0.005
Stress Percepito (PSS) – T2	-	.1028; p= 0.764

SCL-90-R GSI= Global Severity Index; SCL-90-R Oss-Com= Ossessività-Compulsività; SCL-90-R Ipersens. Interpers. = Ipersensibilità Interpersonale

La tabella 6 mostra le analisi di regressione lineare in cui le sottoscale del Symptoms Check List-90-Revised (SCL-90-R) di entrambi i genitori sono state impostate come predittori della percentuale di metilazione globale del DNA misurate a T1 e a T2. Sono riportati solo i valori significativi. I risultati delle regressioni lineari mostrano come le sottoscale “GSI”, “Somatizzazione”, “Depressione” e “Ansia” della madre predicano i livelli di percentuale di metilazione globale del DNA del bambino nel T1, mentre le sottoscale “GSI”, “Somatizzazione”, “Depressione” e “Ansia Fobica” del padre predicano quelli al T2.

Tabella 6

Regressioni lineari sulle percentuali di metilazione globale del DNA del bambino a T1 e a T2 come variabili dipendenti e le sottoscale del Symptoms Check List-90-Revised (SCL-90-R) della madre e del padre come predittori.

	Metilazione Globale DNA Bambino T1			Metilazione Globale DNA Bambino T2		
	β	t(16)	<i>p</i>	β	t(11)	<i>p</i>
Madre (n= 18)						
SCL-90-R Global Severity Index r= 0.53; r ² = 0.28; adjusted r ² = 0.23; F(1,16)= 6.16	-0.53	6.93	0.025			
SCL-90-R Somatizzazione r= 0.56; r ² = 0.31; adjusted r ² = 0.27; F(1,16)= 7.22	-0.56	6.36	0.016			
SCL-90-R Depressione r= 0.52; r ² = 0.27; adjusted r ² = 0.23; F(1,16)= 6.02	-0.52	6.62	0.026			
SCL-90-R Ansia r= 0.63; r ² = 0.40; adjusted r ² = 0.36; F(1,16)= 10.6	-0.63	8.41	0.005			
Padre (n= 13)						
SCL-90-R Global Severity Index r= 0.69; r ² = 0.48; adjusted r ² = 0.43; F(1,11)= 10.09				.69	-1.91	0.008
SCL-90-R Somatizzazione r= 0.74; r ² = 0.55; adjusted r ² = 0.51; F(1,11)= 13.64				.74	-1.94	0.003
SCL-90-R Depressione r= 0.68; r ² = 0.46; adjusted r ² = 0.42; F(1,11)= 9.54				.68	-1.37	0.010
SCL-90-R Ansia Fobica r= 0.99; r ² = 0.98; adjusted r ² = 0.98; F(1,11)= 548.4				.99	2.31	<.0001
SCL-90-R Disturbi del sonno r= 0.73; r ² = 0.53; adjusted r ² = 0.49; F(1,11)= 12.4				.73	-1.62	0.005

SCL-90-R GSI= Global Severity Index; SCL-90-R Oss-Com= Ossessività-Compulsività; SCL-90-R Ipersens. Interpers. = Ipersensibilità Interpersonale

Nella tabella 7 sono riportate le correlazioni tra il $\Delta T2-T1$, le sottoscale del Symptoms Check List-90-Revised (SCL-90-R) di entrambi i genitori e le sottoscale del Paternal Antenatal Attachment Scale (PAAS). I risultati mostrano che il $\Delta T2-T1$ è associato unicamente alla sottoscala Qualità dell'attaccamento del PAAS e alle sottoscale GSI, Somatizzazione, Depressione, Ansia Fobica e Disturbi del sonno del SCL-90-R del padre. Nello specifico un aumento dei punteggi nelle sottoscale del SCL-90-R è associato ad un aumento della metilazione globale del DNA del bambino tra T1 e T2, mentre maggiori punteggi nella sottoscala Qualità dell'attaccamento del Paternal Antenatal Attachment Scale (PAAS) sono associati ad una riduzione dei livelli di metilazione globale del DNA del bambino tra T1 e T2. Le correlazioni tra il $\Delta T2-T1$ e le altre variabili psicologiche dei genitori non sono risultate statisticamente significative.

Tabella 7

Correlazioni (*r* di Pearson) tra la variazione dei livelli di metilazione globale del DNA del bambino tra T2 e T1 ($\Delta T2-T1$), le sottoscale del Symptoms Check List-90-Revised (SCL-90-R) di entrambi i genitori e le sottoscale del Paternal Antenatal Attachment Scale (PAAS).

	$\Delta T2-T1$ Bambino
Madre (n=16)	
Attaccamento prenatale	
PAI Totale	0.1895; p=0.482
PAI Fantasia	-0.0678; p=0.803
PAI Interazione	0.4007; p=.124
PAI Affetto	0.2018; p=0.454
PAI Differenziazione sé-feto	0.0333; p=0.902
PAI Sensibilità materna	-0.0119; p=0.965
SCL-90-R GSI	-0.0832; p=0.759
SCL-90-R Somatizzazione	-0.0832; p=0.759
SCL-90-R Oss-Com	-0.0644; p=0.813
SCL-90-R Ipersens. Interpers.	-0.1285; p=0.635
SCL-90-R Depressione	-0.0702; p=0.796
SCL-90-R Ansia	-0.1132; p=0.676
SCL-90-R Ostilità	-0.0767; p=0.778
SCL-90-R Ansia Fobica	-0.0457; p=0.866
SCL-90-R Ideazione Paranoide	-0.1454; p=0.591
SCL-90-R Psicoticismo	-0.1253; p=0.644
SCL-90-R Disturbi sonno	0.3957; p=0.129
Padre (n=13)	
Attaccamento prenatale	
PAAS Totale	-0.4634; p=0.111
PAAS Qualità attaccamento	-0.6476; p=0.017
PAAS Intensità preoccupazione	-0.2458; p=0.418
SCL-90-R GSI	0.688; p=0.009
SCL-90-R Somatizzazione	0.7373; p=0.004
SCL-90-R Oss-Com	-0.0512; p=0.868
SCL-90-R Ipersens. Interpers.	-0.3282; p=0.274
SCL-90-R Depressione	0.6732; p=0.012
SCL-90-R Ansia	0.4061; p=0.169
SCL-90-R Ostilità	0.4647; p=0.110
SCL-90-R Ansia Fobica	0.9776; p=0.000
SCL-90-R Ideazione Paranoide	0.2528; p=0.405
SCL-90-R Psicoticismo	0.3588; p=0.229
SCL-90-R Disturbi sonno	0.7579; p=0.003

SCL-90-R GSI= Global Severity Index; SCL-90-R Oss-Com= Ossessività-Compulsività; SCL-90-R Ipersens. Interpers. = Ipersensibilità Interpersonale

La tabella 8 mostra i risultati dei modelli di regressione multipla, da cui emerge come solo le sottoscale del Symptoms Check List-90-Revised (SCL-90-R) del padre (ad esclusione della sottoscala Ansia, Ideazione Paranoide e Psicoticismo) predicano in modo significativo la variazione dei livelli di metilazione globale del DNA del bambino tra T2 e T1 ($\Delta T2-T1$).

Tabella 8

Modelli di regressione multipla sulla variazione dei livelli di metilazione globale del DNA del bambino tra T2 e T1 ($\Delta T2-T1$) come variabile dipendente e le sottoscale del Symptoms Check List-90-Revised (SCL-90-R) della madre e del padre considerati separatamente come predittori.

	$\Delta T2-T1$ Bambino						
	b*	Std.Err.	b	Std.Err.	t	p	η^2
Madre (n= 16)							
R= ,77; R ² = ,60; adjusted R ² = n.a.;							
t(4);							
F(11,4)=,54 p<. 8105							
SCL-90-R GSI	-17,71	23,44	-276,05	365,37	-0,76	0,49	-
SCL-90-R Somatizzazione	2,57	3,72	33,28	48,20	0,69	0,53	-
SCL-90-R Oss-Com	0,97	1,86	12,80	24,52	0,52	0,63	-
SCL-90-R Ipersens. Interpers.	-0,73	2,81	-7,86	30,18	-0,26	0,81	-
SCL-90-R Depressione	4,97	5,56	64,66	72,31	0,89	0,42	-
SCL-90-R Ansia	2,02	4,37	26,31	56,99	0,46	0,67	-
SCL-90-R Ostilità	2,67	3,14	31,58	37,02	0,85	0,44	-
SCL-90-R Ansia Fobica	1,24	2,55	19,92	40,80	0,49	0,65	-
SCL-90-R Ideazione Paranoide	2,35	6,04	28,00	72,15	0,39	0,72	-
SCL-90-R Psicoticismo	2,49	5,38	47,03	101,69	0,46	0,67	-
SCL-90-R Disturbi sonno	2,02	2,02	20,55	20,60	1,00	0,37	-
Padre (n= 13)							
R= ,99 R ² = ,99; adjusted R ² = ,99;							
t(1);							
F(11,1)=4835,8 p<.0011							
SCL-90-R GSI	3,15	0,13	146,57	6,21	23,60	0,03	0,998
SCL-90-R Somatizzazione	-0,63	0,04	-16,41	1,10	-14,86	0,04	0,995
SCL-90-R Oss-Com	-0,33	0,02	-14,40	0,72	-20,09	0,03	0,998
SCL-90-R Ipersens. Interpers.	-0,52	0,03	-26,39	1,32	-20,01	0,03	0,998
SCL-90-R Depressione	-0,66	0,03	-24,25	1,00	-24,29	0,03	0,998
SCL-90-R Ansia	-0,46	0,05	-11,41	1,21	-9,46	0,07	-
SCL-90-R Ostilità	-0,47	0,03	-8,92	0,58	-15,32	0,04	0,996
SCL-90-R Ansia Fobica	0,41	0,02	13,87	0,67	20,82	0,03	0,998
SCL-90-R Ideazione Paranoide	-0,05	0,02	-1,54	0,74	-2,08	0,28	-
SCL-90-R Psicoticismo	-0,20	0,02	-36,85	4,47	-8,25	0,08	-
SCL-90-R Disturbi sonno	-0,48	0,03	-6,23	0,36	-17,48	0,04	0,997

SCL-90-R GSI= Global Severity Index; SCL-90-R Oss-Com= Ossessività-Compulsività; SCL-90-R Ipersens. Interpers. = Ipersensibilità Interpersonale

La tabella 9 riporta i risultati dell'analisi della varianza multivariata (MANOVA) tra i gruppi creati in base alla direzionalità del delta T2-T1 del bambino: le sottoscale Ideazione Paranoide e Disturbi del sonno del Symptoms Check List-90-Revised (SCL-90-R) del padre mostrano livelli più elevati nel gruppo in cui da T1 a T2 si è verificato un aumento dei livelli di metilazione globale del DNA.

Le altre variabili psicologiche del padre e della madre non hanno mostrato risultati significativi in relazione alla variabile “ Δ T2-T1 Bambino Dicotomico”.

Tabella 9

Analisi della varianza multivariata (MANOVA) tra i gruppi creati in base alla direzionalità del Δ T2-T1 del bambino (Δ T2-T1 Bambino Dicotomico: “aumento metilazione” vs “diminuzione metilazione”) e la Symptoms Check List-90-Revised (SCL-90-R) del padre.

Wilks =.000002 F(1,11)=50797.03; p =.003; η^2 =.999						
	“aumento metilazione” (n=3)	“diminuzione metilazione” (n=10)	df = 11		95% CI: n to n	
	M(SD)	M(SD)	F	p	“aumento metilazione”	“diminuzione metilazione”
SCL-90-R GSI	0.54 (0.3)	0.32 (0.2)	3.06	.108	-0.13-1.20	0.20-0.44
SCL-90-R Somatizzazione	0.86 (0.5)	0.43 (0.3)	4.17	.066	-0.40-2.13	0.25-0.62
SCL-90-R Oss-Com	0.40 (0.1)	0.43 (0.2)	.04	.844	0.15-0.65	0.25-0.60
SCL-90-R Ipersens. Interpers.	0.15 (0.1)	0.18 (0.2)	.05	.819	-0.17-0.47	0.03-0.32
SCL-90-R Depressione	0.46 (0.4)	0.30 (0.2)	.94	.353	-0.60-1.52	0.16-0.44
SCL-90-R Ansia	0.60 (0.5)	0.54 (0.4)	.05	.822	-0.54-1.74	0.27-0.81
SCL-90-R Ostilità	0.94 (0.6)	0.52 (0.4)	1.83	.204	-0.51-2.40	0.19-0.84
SCL-90-R Ansia Fobica	0.33 (0.6)	0.01 (0.04)	3.77	.078	-1.1-1.77	-0.02-0.05
SCL-90-R Ideazione Paranoide	0.67 (0.2)	0.25 (0.2)	7.74	.018	-0.25-1.08	0.08-0.42
SCL-90-R Psicoticismo	0.07 (0.1)	0.03 (0.05)	1.23	.290	-0.08-0.21	-0.04-0.06
SCL-90-R Disturbi sonno	1.78 (0.8)	0.70 (0.5)	8.41	.014	-0.13-3.69	0.33-1-06

SCL-90-R GSI= Global Severity Index; SCL-90-R Oss-Com= Ossessività-Compulsività; SCL-90-R Ipersens. Interpers. = Ipersensibilità Interpersonale

3.3.4. Variabili psicologiche dei genitori

Per quanto riguarda le variabili psicologiche della madre, sono state effettuate delle analisi di correlazione tra le scale della depressione post-partum (Edinburgh Postnatal Depression Scale-EPDS), la scala dello stress percepito (Perceived Stress Scale-PSS) a T0 e T2, la Symptoms Check List-90-Revised (SCL-90-R), l'attaccamento prenatale materno (Prenatal Attachment Inventory-PAI) e paterno (Paternal Antenatal Attachment Scale-PAAS), l'attaccamento adulto (Attachment Style Questionnaire-ASQ), l'alessitimia (Toronto Alexithymia Scale-20-TAS-20) e le scale della Scala di Valutazione dell'Interazione Alimentare Madre-Bambino (SVIA) a T1 e T2. I risultati hanno mostrato un'associazione statisticamente significativa positiva del totale dell'EPDS con la PSS a T0 ($r=.57$; $p=.021$) e T2 ($r=.82$; $p<.0001$), con il fattore F1 della TAS-20 ($r=.62$; $p=.011$), con le seguenti sottoscale del SCL-90-R: Global Severity Index ($r=.68$; $p=.004$), Somatizzazione ($r=.66$; $p=.005$); Ossessività-Compulsività ($r=.56$; $p=.023$); Depressione ($r=.69$; $p=.003$); Ansia ($r=.61$; $p=.013$); Ideazione Paranoide ($r=.54$; $p=.032$); Psicoticismo ($r=.67$; $p=.005$); con la sottoscala Bisogno di Approvazione dell'ASQ ($r=.57$; $p=.021$) e con le seguenti sottoscale della SVIA a T2: Stato Affettivo della Madre ($r=.64$; $p=.008$); Conflitto Interattivo ($r=.59$; $p=.017$) e Comportamento Alimentare di Rifiuto ($r=.62$; $p=.010$).

Inoltre, le analisi correlazionali hanno mostrato un'associazione positiva tra il totale del PAI e la sottoscala Intensità delle Preoccupazioni del PAAS ($r=.61$; $p=.046$), la quale correla anche con la sottoscala Differenziazione sé-feto del PAI ($r=.64$; $p=.035$); un'associazione positiva tra il totale ($r=.59$; $p=.017$) e la sottoscala Fantasia ($r=.55$; $p=.029$) del PAI con il fattore F3 della TAS-20; un'associazione negativa tra la sottoscala Differenziazione sé-feto del PAI e la sottoscala Conflitto interattivo della SVIA al T1 ($r=-.54$; $p=.031$); un'associazione negativa tra la sottoscala Affetto del PAI e le sottoscale Somatizzazione ($r=-.51$; $p=.044$), Depressione ($r=-.50$; $p=.049$), Ostilità ($r=-.51$; $p=.046$) del SCL-90.

3.4. Discussione

I risultati principali del presente studio suggeriscono che già nel primo mese di vita sia presente una certa plasticità dei meccanismi di metilazione globale dei neonati, che sembra essere associata alle caratteristiche psicologiche dei genitori. Nello specifico, la metilazione globale del DNA del bambino alla nascita sembra essere associata ai sintomi psicopatologici della madre, con particolare riferimento alle dimensioni dell'ansia e della depressione, mentre dopo un mese di vita la metilazione globale del bambino sembra essere associata alla sintomatologia psicopatologica del padre, soprattutto ai sintomi di depressione, di somatizzazione e di ansia fobica. È interessante notare che, alla nascita, la maggiore presenza di sintomi psicopatologici materni predice bassi livelli di metilazione globale del DNA del bambino, mentre, al contrario, dopo un mese, una maggiore sintomatologia psicopatologica paterna predice alti livelli di metilazione globale del DNA del bambino. La metilazione del DNA è un segnale binario, un allele può essere metilato o non metilato in un determinato sito, dunque, le variazioni percentuali nella metilazione globale del DNA indicano la frazione di cellule che ha subito un cambiamento completo nella metilazione in un determinato sito (Nemoda et al., 2015). Pertanto, la direzionalità dei livelli globali di metilazione del DNA è un indicatore generale difficile da interpretare, in particolare considerando la complessità con cui i diversi geni si esprimono, creando differenti pattern di espressione che organizzano il fenotipo (Kader et al., 2018). In relazione ai sintomi materni e ai livelli di metilazione subito dopo la nascita, precedenti studi hanno mostrato risultati simili. Mentre una ricerca recente non ha trovato differenze sulla metilazione globale in relazione alla depressione prenatale (Wikenius et al., 2019), in uno studio condotto utilizzando il DNA del cordone ombelicale, Nemoda e colleghi (2015) hanno riportato che tra i 2520 siti CpG che hanno analizzato, il 75,5% dei siti risultava essere ipometilato nel gruppo di neonati con madri depresse rispetto al gruppo di controllo. Tali risultati sono in accordo anche con precedenti studi che analizzavano la metilazione di geni target in cui, ad esempio, i sintomi depressivi materni erano associati con delle differenze tra il 2 e il 6% nell'imprinting nelle regioni genetiche⁷ (Liu et al., 2012) o nelle regioni del promotore del

⁷ L'imprinting genomico è un fenomeno epigenetico che causa l'espressione genica in un modo che è specifico per i genitori (Ferguson-Smith, 2011). L'imprinting genomico è un processo ereditario indipendente dall'eredità mendeliana classica che coinvolge la metilazione del DNA e la metilazione dell'istone senza alterare la sequenza genetica. Questi segni epigenetici sono "impressi" nella linea germinale (spermatozoi o cellule uovo) dei genitori e sono mantenuti attraverso le divisioni cellulari mitotiche nelle cellule somatiche di un organismo. L'imprinting appropriato di alcuni geni è importante per il normale sviluppo; malattie che coinvolgono

gene del recettore glucocorticoide (Oberlander et al., 2008). Nemoda e colleghi (2015) ipotizzano che questa riduzione dei livelli di metilazione in risposta alla sintomatologia psicopatologica materna possa essere dovuta alla reattività delle vie infiammatorie periferiche e centrali che si attiverebbero durante la gravidanza e che potenzialmente potrebbero influenzare la neurogenesi e l'espressione genica in generale, in un periodo critico per lo sviluppo perinatale. Tuttavia, questa ipotesi richiede ulteriori verifiche, probabilmente con esperimenti su modelli animali che permetterebbero di testarla con maggiore precisione. Uno studio che ha analizzato la presenza sia di depressione sia di ansia durante la gravidanza ha mostrato che la maggior parte dei siti CpG significativi identificati attraverso le analisi della metilazione globale del DNA presentava una costante ipometilazione del DNA nei neonati esposti a depressione o ad ansia rispetto ai neonati non esposti (Non et al., 2014). Tipicamente, una bassa metilazione del DNA nella regione del promotore di un gene è associata alla sovraregolazione dell'espressione genica (Klose & Bird, 2006), ma la funzione biologica della metilazione del DNA varia notevolmente nei diversi contesti genomici (Jones, 2012). Tuttavia, nel presente studio, i livelli di metilazione globale del DNA appaiono bassi alla nascita nelle madri con sintomatologia psicopatologica, indipendentemente dal gene o dalla posizione genomica del sito. Precedenti studi sulle avversità della prima infanzia e sui modelli di metilazione globale del DNA hanno trovato sia l'aumento (Vangeel et al., 2017) che la riduzione della metilazione del DNA in risposta a fattori di stress della prima infanzia (Essex et al., 2013; Borghol et al., 2011). Anche se questi studi hanno valutato le diverse esposizioni a situazioni avverse nella prima infanzia in differenti tessuti, i risultati discordanti nella aumentata o ridotta metilazione del DNA suggeriscono che ci siano processi epigenetici complessi e diversi, per i quali resta da determinare il pieno significato funzionale. Questi risultati suggeriscono, tuttavia, che i profili epigenetici possano essere sensibili alle esperienze di vita precoci (Non et al., 2014). Invece, in relazione ai risultati riscontrati ad un mese di vita, in cui la sintomatologia paterna sembra predire alti livelli di metilazione del DNA, ad oggi non sono presenti studi che mostrino evidenze su questo tipo di associazione nel periodo perinatale. Tali risultati relativi al padre sono stati confermati anche dalle analisi condotte nel presente studio sulla differenza di percentuale tra i livelli di metilazione del DNA del bambino alla nascita e dopo un mese, esplorata attraverso il delta T2-T1, che sembra essere principalmente influenzata dai sintomi psicopatologici paterni. Le correlazioni tra i livelli di metilazione del bambino e le

l'imprinting genomico comprendono la sindrome di Angelman, la sindrome di Prader-Willi e l'infertilità maschile (Rotondo et al., 2013).

caratteristiche genetiche del padre non hanno mostrato risultati significativi, suggerendo che gli effetti riscontrati non possano essere giustificati da fattori meramente genetici. Nonostante le forti evidenze che hanno mostrato il ruolo cruciale dei padri nel benessere dei bambini (Ramchandani & Psychogiou, 2009), la ricerca sull'influenza del benessere psicologico sulle traiettorie di sviluppo dei figli si è concentrata principalmente sulle madri. Da un punto di vista comportamentale è ben noto che i padri diano contributi unici e significativi al rischio psicopatologico e al benessere dei bambini nei primi anni di sviluppo (Boyce et al., 2005). Alcuni studi hanno suggerito che elevati sintomi depressivi o ansiosi paterni durante la gravidanza e nel periodo post-partum aumentano il rischio di problemi nello sviluppo socio-emotivo del bambino (Ramchandani et al., 2008). Tra i bambini che hanno un basso coinvolgimento del padre nell'infanzia, è stata riscontrata un'elevata reattività comportamentale, autonoma e dell'HPA, che rappresenta un fattore di rischio per i successivi sintomi psicologici (Boyce et al., 2006). Da un punto di vista epigenetico, uno studio longitudinale condotto su ragazzi di quindici anni ha analizzato le differenze nella metilazione del DNA in relazione ai report dei genitori sulle avversità durante l'infanzia e nel periodo prescolare dei figli (Essex et al., 2013). Gli elevati livelli di avversità riportati dai padri durante l'età prescolare dei loro figli erano significativamente associati ad aumento della metilazione in diversi loci CpG (*ibidem*). I dati di Essex e colleghi (2013) mostrano, inoltre, che le esperienze di avversità tra madri e padri avevano delle associazioni con i profili epigenetici dei figli all'interno di specifici periodi di sviluppo, in cui i fattori di stress materni erano più predittivi durante il periodo dell'infanzia mentre quelli paterni erano più predittivi durante gli anni della scuola. I risultati suggerirebbero quindi correlazioni epigenetiche delle avversità biparentali, con delle differenze nella sensibilità ai fattori di stress di un genitore rispetto all'altro, specifica a seconda del periodo di vita (Essex et al., 2013). Tali risultati confermerebbero, a livello epigenetico, osservazioni di studi precedenti che mostrano le influenze specifiche del genere dei genitori sullo sviluppo e sul benessere del bambino (Ellis et al., 1999). Ad esempio, l'assenza paterna o la distanza nella genitorialità sono state collegate a una precoce insorgenza della pubertà (*ibidem*). La metilazione globale del DNA è un meccanismo epigenetico che, fisiologicamente, tende ad aumentare nel corso della vita (Jones et al., 2015). Una possibile interpretazione dell'associazione tra la sintomatologia paterna e gli elevati livelli di metilazione globale dopo un mese di vita riscontrata in questo studio potrebbe risiedere nel fatto che la presenza di difficoltà psicologiche nel padre, influenzando conseguentemente l'ambiente sociale del bambino, accelera un meccanismo fisiologico di incremento nella metilazione. Uno studio recente ha

mostrato come il contatto fisico tra un neonato e il proprio caregiver sia associato a variazioni nell'età epigenetica (Moore et al., 2017). Non è possibile ad oggi definire se tali cambiamenti siano funzionali o meno, tuttavia, si potrebbe speculare che, similmente a quanto accade nel fenomeno del *pruning* sinaptico⁸ nel sistema nervoso, una maggiore accelerazione nei meccanismi che regolano il DNA e definiscono più chiaramente i pattern di espressione genica possa permettere al bambino di fronteggiare al meglio un ambiente più complesso o potenzialmente più ostile. Si potrebbe ipotizzare che la presenza di sintomatologia paterna possa concretizzarsi in un ambiente sociale meno stimolante o più preoccupante per il neonato, creando le condizioni per delle modifiche da un punto di vista epigenetico simili a quelle che si sono osservate nei modelli animali in cui i cuccioli erano posti in ambienti impoveriti (Mitchell et al., 2016). Da un punto di vista psicologico, è sicuramente interessante notare che, mentre l'influenza dei sintomi materni sembra giocare nel periodo prenatale e immediatamente a ridosso della nascita, dopo aver vissuto il primo mese di vita, sono i sintomi paterni che sembrano avere maggiore influenza sullo sviluppo del bambino. Tuttavia, tale disparità nella sensibilità ai fattori psicopatologici di un genitore rispetto all'altro, che sembra essere specifica a seconda della fase di vita, è di difficile interpretazione. Come riportato nel primo capitolo di questo lavoro, secondo le teorie psicoanalitiche, la relazione tra la madre e il bambino nei primissimi momenti di vita è caratterizzata da una forte simbiosi diadica, in cui il bambino difficilmente si percepisce come differenziato dalla madre. È, dunque, possibile che, nel primo mese di vita, il padre rappresenti il primo membro realmente “esterno/altro da sé” per il bambino e, in virtù di questo ruolo, le informazioni (comportamenti e affetti) provenienti dalla figura paterna divengano per il neonato particolarmente salienti e indicative del mondo esterno, al quale il bambino reagisce e si adatta anche attraverso meccanismi epigenetici. In un'ottica evuzionistica, si può ipotizzare, inoltre, che l'informazione proveniente dal padre, che svolge principalmente il ruolo di protezione del nucleo familiare e di latore dei valori culturali del gruppo (Lamb & Tamis-LeMonda, 2004), potrebbe rappresentare la prima avvisaglia di un pericolo concreto per la sopravvivenza dei membri familiari, al quale, dunque, un organismo in via di sviluppo potrebbe rispondere con particolare sensibilità per adattarsi in tempi relativamente brevi. Studi sulle difficoltà psicologiche genitoriali prenatali hanno mostrato che, all'interno dei gruppi di genitori con elevati sintomi di ansia, le madri avevano punteggi dei sintomi più bassi rispetto ai padri, il che suggerisce che, quando i padri soffrono di disagio psicologico,

⁸ Il *pruning* o sfoltoimento sinaptico è il processo attraverso cui vengono eliminate dal cervello le connessioni meno importanti o poco utilizzate, favorendo la precisione nel funzionamento delle sinapsi stesse.

esso si manifesta in modo relativamente più grave, con un maggiore impatto sulle traiettorie di sviluppo del figlio (Korja et al., 2018). Durante il periodo della gestazione, come riportato da precedenti studi, sembra che i meccanismi alla base dei possibili effetti dei sintomi psicopatologici materni e paterni sull'esito del bambino siano almeno parzialmente diversi (Ramchandani et al., 2008; Liu et al., 2016; Van Batenburg-Eddes et al., 2013). La depressione e l'ansia materna durante la gravidanza sembrano influenzare il bambino principalmente attraverso differenti processi intrauterini, tra cui l'attività dell'asse HPA, il funzionamento della placenta, i cambiamenti nell'ambiente immunologico o l'apporto nutrizionale (O'donnell et al., 2009; Egliston et al., 2007; Van den Bergh et al., 2017). Invece, gli effetti dei sintomi psicopatologici paterni sul bambino possono essere sia mediati dalla madre che sperimenta un maggiore disagio psicosociale a causa del disagio psicologico del padre (Liu et al., 2016; Van Batenburg-Eddes et al., 2013) sia da potenziali effetti epigenetici dello sperma paterno che vengono trasmessi al figlio con conseguente metilazione del DNA nella prole (Mychasiuk et al., 2013) o direttamente attraverso le cure parentali e la stimolazione sociale (Braun & Champagne, 2014). Complessivamente, tuttavia, pochissimi studi si sono concentrati contemporaneamente sui sintomi psicopatologici prenatali e perinatali paterni e materni all'interno dello stesso studio (Korja et al., 2018).

È possibile che le influenze dei sintomi psicopatologici della madre sui processi epigenetici, che nel presente studio sono rilevanti solo subito dopo la nascita, abbiano bisogno di un tempo più lungo per essere osservate, cosa che, considerato il follow-up a breve termine di questa ricerca, non è stato possibile rilevare. Tuttavia, il breve tempo del follow-up del presente studio ha permesso di rilevare che, già nel primo mese di vita, si verifica una variazione della metilazione globale del DNA del bambino, sensibile alle caratteristiche psicologiche genitoriali. Tale dato indica una certa plasticità, specificità e rapidità nei processi epigenetici a livello dei meccanismi generali di metilazione, che precedentemente era stata esplorata solo a livello dell'espressione proteica negli adulti (Branchi et al., 2011). Le analisi sulla variazione tra i due tempi della metilazione del DNA della madre ($\Delta T2-T1$) e le caratteristiche psicopatologiche della stessa non hanno, invece, prodotto alcun risultato significativo. Questi dati potrebbero essere indicativi del fatto che il periodo immediatamente successivo alla nascita possa rappresentare un momento critico di maggiore sensibilità all'ambiente.

Un altro risultato interessante del presente studio riguarda i dati relativi all'attaccamento prenatale. I risultati hanno mostrato che la variazione dei livelli di metilazione del DNA del

bambino tra T2 e T1 è negativamente associata alla dimensione “Qualità dell’attaccamento” dell’attaccamento prenatale paterno. Tale dimensione fa riferimento alle rappresentazioni che il padre ha della relazione con il futuro bambino (ad esempio, una domanda tipica di questa sottoscale è “Quando nascerà il mio bambino, vorrò tenerlo in braccio”). Coerentemente con i risultati sulla sintomatologia psicopatologica, un basso livello di attaccamento prenatale paterno si associa a un maggior livello di metilazione globale del DNA del bambino dopo un mese. Diversi studi precedenti hanno mostrato che i padri che hanno riportato più sintomi di depressione o ansia avevano generalmente una qualità dell’attaccamento più scarsa nei confronti del loro feto (Vreeswijk et al., 2014) e che i padri depressi avevano meno interazioni positive con i loro bambini dopo la nascita (Paulson et al., 2006). È noto che la depressione postnatale tra i padri abbia influenze negative sullo sviluppo e sul comportamento dei bambini così come sulla qualità del comportamento genitoriale (Fletcher et al., 2011; Ramchandani et al., 2011; Wilson & Durbin, 2010). I figli di padri che hanno sofferto di depressione nelle settimane successive al parto presentavano significativamente più problemi di condotta e iperattività all'età di 3 anni e mezzo rispetto a quelli con padri non depressi (Ramchandani et al., 2005). Come suggerito da Condon e colleghi (2013), bassi livelli di attaccamento prenatale si associano alla sintomatologia depressiva nei padri nel periodo perinatale e potrebbero spiegare tali successive difficoltà nello sviluppo dei figli. L’attaccamento prenatale al feto di entrambi i genitori, infatti, si mostra fortemente associato allo stile di interazione successivo con il bambino (Condon et al., 2004). I padri che riportano una più alta qualità dell’attaccamento prenatale hanno più probabilità di avere rappresentazioni equilibrate dei loro bambini non ancora nati, mentre i padri con una qualità dell’attaccamento più bassa hanno più probabilità di mostrare rappresentazioni del figlio caratterizzate da scarso investimento emotivo (Vreeswijk et al., 2014). La stretta interconnessione che sembra esistere tra il benessere psicologico paterno nel periodo pre- e peri-natale e le rappresentazioni del futuro bambino (Condon et al., 2013; Vreeswijk et al., 2014) sembra spiegare i risultati del presente studio. In modo coerente con l’andamento della relazione tra la sintomatologia psicopatologica paterna e la metilazione del bambino, l’attaccamento prenatale paterno si mostrava negativamente associato ai livelli di metilazione globale del DNA del bambino dopo un mese di vita. Potrebbe essere che un basso attaccamento prenatale possa associarsi a sintomi di depressione e ansia perinatali che contribuiscono a creare un ambiente sociale meno stimolante per il bambino. Da un punto di vista clinico, è importante notare che i risultati riguardavano la qualità dell’attaccamento prenatale, ma non l'intensità della preoccupazione verso il feto. Questo dato suggerisce che

la qualità dei pensieri e dei sentimenti del padre sul nascituro è più importante rispetto all'effettivo tempo speso a pensare al futuro bambino (Vreeswijk et al., 2014). Al meglio delle nostre conoscenze, questi dati sono i primi che mostrano l'associazione tra meccanismi epigenetici e le rappresentazioni mentali di un genitore sul proprio figlio. È interessante che, anche nel caso dell'attaccamento prenatale, i dati relativi al padre siano gli unici a fornire risultati significativi. È possibile che, come scritto in precedenza, per misurare e cogliere gli effetti dell'influenza materna ci sia bisogno di un lasso di tempo maggiore, in considerazione della stretta simbiosi che esiste nel primo mese di vita tra neonato e madre, che potrebbe rendere più salienti le informazioni provenienti dal padre, in qualità di rappresentante "del mondo esterno".

Contrariamente a quanto ipotizzato, le caratteristiche della qualità della relazione tra madre e bambino, raccolte attraverso le videoregistrazioni, non hanno prodotto risultati significativi in relazione agli aspetti epigenetici. Probabilmente, in linea con i risultati comportamentali ricavati dai questionari, il periodo di tempo in cui è stata condotta l'osservazione è troppo breve per cogliere l'impatto della qualità relazionale con la madre sui processi epigenetici. Il periodo immediatamente successivo alla nascita è un periodo critico e complesso, in cui le madri e il neonato si aggiustano l'uno con le caratteristiche dell'altro e potrebbe essere necessario un tempo più lungo per stabilire le traiettorie relazionali della specifica coppia madre-bambino, tali da avere un impatto sulle variabili epigenetiche rilevabile con le attuali tecniche. Alla luce dei risultati relativi alle variabili psicologiche paterne, sarebbe interessante ripetere il presente studio includendo delle osservazioni anche delle interazioni tra neonato e padre che forse potrebbero dare supporto ai dati presentati finora.

Infine, i risultati del presente studio relativi esclusivamente alle variabili psicologiche dei genitori, hanno mostrato come un maggiore attaccamento prenatale materno sia associato con uno stile interattivo più responsivo durante l'allattamento già il giorno successivo alla nascita e con minore somatizzazione e depressione materne. Inoltre, è interessante notare che sembra esserci un'associazione positiva tra la qualità dell'attaccamento prenatale materno e paterno, suggerendo che i genitori del presente campione condividessero rappresentazioni simili del futuro bambino. Rimane da chiarire, tuttavia, il diverso impatto di tali rappresentazioni sui meccanismi epigenetici del bambino.

Il presente studio era inteso come un'indagine esplorativa e preliminare delle primissime esperienze sociali e relazionali dei neonati nel primo mese di vita e dei possibili meccanismi epigenetici ad esse associati. I dati presentati mostrano che gli aspetti psicologici dei genitori e le rappresentazioni del futuro bambino sembrano avere un impatto sull'espressione genica,

influenzando i livelli di metilazione globale del DNA del bambino. In particolare, nel primo mese di vita, i cambiamenti nei livelli di metilazione globale del neonato sembrano essere predetti dalla sintomatologia psicopatologica e dall'attaccamento prenatale del padre, mentre le dimensioni psicopatologiche materne sembrano avere la loro influenza sulla metilazione del DNA del bambino solo subito dopo la nascita. Nonostante i risultati mostrino delle intriganti prospettive nello studio della relazione tra esperienze precoci ed espressione genica, il presente studio presenta numerosi limiti. Il primo limite riguarda la numerosità ridotta del campione, che rende i risultati da intendersi come indicazioni preliminari per successive ricerche con campioni più estesi. Considerato il periodo molto delicato e la relativa invasività di questo studio, in cui si raccoglieva materiale sensibile sia visivo che biologico, il reclutamento del campione finale è stato un processo lungo e complesso. Tuttavia, la dimensione dell'effetto dei risultati ottenuti si è comunque dimostrata buona. Secondariamente, per motivi logistici legati al reclutamento, la maggior parte dei partecipanti era stato sottoposto a parto cesareo, che è stato riportato come fattore che influenza la metilazione del DNA (Nemoda et al., 2015); tuttavia nel presente campione questo fattore non sembra avere avuto influenze sulla significatività dei risultati. Inoltre, questo studio ha usato le cellule epiteliali della bocca come misura biologica, tessuto che è poco utilizzato come target dei cambiamenti epigenetici legati ai contesti sociali (Essex et al., 2013). Le variazioni di metilazione del DNA nella cromatina epiteliale non sono probabilmente accostabili alle modifiche epigenetiche nei tessuti neurali, che sono invece generalmente considerati il substrato biologico diretto per eventi e processi di sviluppo. Ciononostante, i segni epigenetici correlati alle variabili psicologiche dei genitori qui riportati costituiscono la misura di un cambiamento epigenetico associato all'esperienza sociale precoce che può alterare l'espressione genica. Inoltre, il presente è il primo studio che utilizza le cellule epiteliali della bocca su neonati così piccoli, perché questo tipo di tessuto biologico è misurabile attraverso tamponi buccali non invasivi. La scelta di utilizzare le cellule epiteliali ha permesso di studiare in modo longitudinale bambini così piccoli, il cui DNA normalmente viene estratto dal cordone ombelicale in un solo momento temporale.

3.5. Conclusioni

In conclusione, il presente lavoro di tesi ha esplorato l'impatto delle caratteristiche psicologiche dei genitori e delle prime relazioni sull'espressione genica del neonato, tenendo conto della delicata interconnessione tra psicologia e genetica e cercando di creare un ponte tra queste due discipline attraverso la chiave di lettura dell'epigenetica comportamentale. I risultati suggeriscono che il DNA e i suoi meccanismi siano particolarmente sensibili al primo ambiente sociale, modificandosi in tempi relativamente brevi e in associazione con le caratteristiche psicologiche dei genitori.

Questo studio è stato condotto nel contesto di un periodo di vita molto particolare e delicato per i partecipanti coinvolti, il che ha reso complesso il reclutamento, riducendo il numero del campione. Pertanto, i risultati non sono generalizzabili e la ricerca è da considerare uno studio pilota in questo campo. Tuttavia, questo progetto ha permesso di comprendere un po' più approfonditamente la complessa interazione tra fattori psicologici e genetici.

Il disegno longitudinale del progetto ha dato la possibilità di osservare il cambiamento dei meccanismi di metilazione in associazione con le caratteristiche psicologiche genitoriali. Ampliando i risultati del presente studio, si potrebbe avere l'opportunità di studiare in modo più diretto le variabili psicologiche che influenzano i meccanismi epigenetici, permettendo di identificare il rischio di sviluppo di psicopatologie dello sviluppo che per anni sono state considerate unicamente da un punto di vista genetico o psicologico e che difficilmente vengono diagnosticate precocemente. Avere la possibilità di rilevare i fattori ambientali alla base di cambiamenti epigenetici potrebbe permettere di intervenire anticipatamente sui disturbi dello sviluppo. Inoltre, lo studio sistematico dei cambiamenti epigenetici del bambino associati alle dimensioni psicologiche dei genitori potrebbe dare un contributo importante allo studio delle prime interazioni con il neonato, aiutando anche a prevenire le crescenti difficoltà che colpiscono i genitori dopo il parto.

I risultati del presente studio, inoltre, sottolineano la crescente necessità di includere negli interventi di salute mentale anche i futuri padri. Dai risultati appare evidente che il ruolo della figura paterna acquisisca, nel primo periodo di vita, un'importanza cruciale per le traiettorie di sviluppo del bambino.

Da questa ricerca si evidenzia l'importanza di considerare lo sviluppo del neonato con un approccio multidisciplinare che possa consentire di approfondire la comprensione dell'eziologia delle psicopatologie da un punto di vista più esaustivo. L'integrazione tra le teorie psicologiche e le misure epigenetiche potrebbe auspicabilmente consentire di

sviluppare strumenti e modelli teorici nuovi e di ampia portata, utilizzando le tecniche e le conoscenze specifiche di ciascuna disciplina.

Ringraziamenti

In ordine cronologico, il mio ringraziamento morale va al prof. Cecchini, che dai primi anni dell'università, con la sua domanda "ma l'avete mai osservato voi un neonato?" e i suoi studi, mi ha fatto capire che creature straordinariamente interessanti siano i neonati con le loro incredibili abilità comunicative. Da lì è iniziato il lento e tortuoso percorso verso questo studio.

Al prof. Lai va, naturalmente, la maggior parte della mia gratitudine, non saprei bene da dove iniziare, per ora, sicuramente, il ringraziamento più sentito va per avermi insegnato, tra una birra e una strigliata di capo, a credere nelle mie idee, ma forse, ancora di più, ad appropriarmene. Credo che ricorderò per sempre un discorso all'inizio del dottorato, dopo il quale ho pianto diverse ore vagando per le vie di San Lorenzo, ma in cui ho imparato il vero senso di cosa voglia dire lottare per vedere realizzata un'idea in cui si crede, o quantomeno di cui si è profondamente curiosi. Grazie per avermi trasmesso un modo di pensare e di ragionare. Grazie anche per le risate, i pianti, il "sadismo" (scherzo), la pazienza. E per la fiducia.

Grazie a Laura, che con le sue "risate isteriche" ha alleggerito la frustrazione di questi anni e mi ha aiutata a provare (con scarso successo) a dire di "no" per salvaguardare il mio benessere psicofisico, o quello che il dottorato fa passare per tale. Tra te, il vino, i "selfie gatto" e gli abbracci forzati, il dottorato è stato un po' più leggero e spensierato...grazie per esserti accollata! Grazie ad Edvaldo, che con la sua ansia mi ha fatto essere sempre puntuale con le scadenze e mi ha ricordato le lezioni...senza di te avrei perso quasi tutti i seminari. Mi mancheranno le tue domande improbabili cui puntualmente non so dare risposta. Grazie a Chiara e a Daniela, che nell'ultimo anno hanno portato ordine (molto ordine) e una ventata di ossessiva leggerezza.

Grazie a Diego che è stato un compagno inamovibile anche nel percorso di dottorato. Grazie di avermi spinto a iniziare questo percorso quando avevo paura, di aver creduto in me in ogni momento, di esserti sorbiti interminabili discorsi sul laboratorio, sul mio studio, sugli entusiasmi e sui miei insaziabili dubbi. Grazie per le litigate che mi hanno spesso riportata a un senso di realtà e grazie per aver mangiato tardi con me quando tornavo la sera dopo i ricoveri delle madri in ospedale.

Grazie a Isotta che mi è sempre stata vicina anche quando c'era semplicemente dell'ansia libera in circolo. So di averti trascinata, a volte, in ragionamenti contorti di statistica, di cui, molto probabilmente, non te ne fregava niente...grazie di avermi sopportata. Come sempre, d'altronde.

Infine, grazie a Laura, la mia tesista, perché mi ha dato il coraggio di parlare concretamente con i genitori e di reclutare i primi partecipanti mentre le mani tremavano e la timidezza si affacciava imperterrita. Grazie di cuore a tutti i genitori e ai piccoli neonati che hanno preso allo studio senza i quali non avrei potuto fare nulla di tutto ciò.

Bibliografia

- Ainsworth, M. D. S. (1969). Object relations, dependency, and attachment: A theoretical review of the infant-mother relationship. *Child development*, 969-1025.
- Ainsworth, M. D. S., Blehar, M. C., Waters, E., & Wall, S. N. (2015). *Patterns of attachment: A psychological study of the strange situation*. Psychology Press.
- Ainsworth, M. D., & Wittig, B. (1969). Attachment, exploration, and separation: illustrated by the behavior of one-year-olds in a strange situation. *Determinants of infant behaviour*, 4, 113-136.
- Altemus, M., Deuster, P. A., Galliven, E., Carter, C. S., & Gold, P. W. (1995). Suppression of hypothalamic–pituitary–adrenal axis responses to stress in lactating women. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 80, 2954–2959.
- Amato, P. R. (1994). Father-child relations, mother-child relations, and offspring psychological well-being in early adulthood. *Journal of Marriage and the Family*, 1031-1042.
- Amico, J. A., Johnston, J. M., & Vagnucci, A. H. (1994). Suckling-induced attenuation of plasma cortisol concentrations in postpartum lactating women. *Endocrine Research*, 20, 79–87.
- Ammaniti, M., Candelori, C., Pola, M., Tambelli, R. (1995). *Maternità e gravidanza. Studio delle rappresentazioni materne*. Raffaello Cortina, Milano.
- Ammaniti, M., Lucarelli, L., Cimino, S., & D'Olimpio, F. (2006). *Scala di Valutazione dell'Interazione Alimentare Madre-Bambino-SVIA* Manoscritto non pubblicato. Roma: Sapienza Università degli Studi.
- Ammaniti, M., Stern, D. (a cura di) (1992). *Attaccamento e psicoanalisi*. Laterza, Bari.
- Anderson, J. W., Johnstone, B. M., & Remley, D. T. (1999). Breast-feeding and cognitive development: A meta-analysis. *American Journal of Clinical Nutrition*, 70, 525–535.
- Arborelius, L., & Eklund, M. B. (2007). Both long and brief maternal separation produces persistent changes in tissue levels of brain monoamines in middle-aged female rats. *Neuroscience*, 145(2), 738-750.
- Ashe, A., Sapetschnig, A., Weick, E. M., Mitchell, J., Bagijn, M. P., Cording, A. C., ... & Pintacuda, G. (2012). piRNAs can trigger a multigenerational epigenetic memory in the germline of *C. elegans*. *Cell*, 150(1), 88-99.

- Auerbach, J. G., Faroy, M., Ebstein, R., Kahana, M., & Levine, J. (2001). The association of the dopamine D4 receptor gene (DRD4) and the serotonin transporter promoter gene (5-HTTLPR) with temperament in 12-month-old infants. *The Journal of Child Psychology and Psychiatry and Allied Disciplines*, 42(6), 777-783.
- Auerbach, J., Geller, V., Lezer, S., Shinwell, E., Belmaker, R. H., Levine, J., & Ebstein, R. P. (1999). Dopamine D4 receptor (D4DR) and serotonin transporter promoter (5-HTTLPR) polymorphisms in the determination of temperament in 2-month-old infants. *Molecular Psychiatry*, 4(4), 369.
- Bagby, R. M., Parker, J. D., & Taylor, G. J. (1994). The twenty-item Toronto Alexithymia Scale—I. Item selection and cross-validation of the factor structure. *Journal of psychosomatic research*, 38(1), 23-32.
- Bambico, F. R., Lacoste, B., Hattan, P. R., & Gobbi, G. (2013). Father absence in the monogamous California mouse impairs social behavior and modifies dopamine and glutamate synapses in the medial prefrontal cortex. *Cerebral Cortex*, 25(5), 1163-1175.
- Barker, D. J. P. (1998). *Mothers, babies, and health in later life*. Elsevier Health Sciences.
- Barker, D. J., & Osmond, C. (1986). Infant mortality, childhood nutrition, and ischaemic heart disease in England and Wales. *The Lancet*, 327(8489), 1077-1081.
- Barr, C. S., Newman, T. K., Lindell, S., Becker, M. L., Shannon, C., Champoux, M., ... & Higley, J. D. (2004). Early experience and sex interact to influence limbic-hypothalamic-pituitary-adrenal-axis function after acute alcohol administration in rhesus macaques (*Macaca mulatta*). *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 28(7), 1114-1119.
- Bateson, P. P. G. (1966). The characteristics and context of imprinting. *Biological Reviews*, 41(2), 177-217.
- Bateson, P., Barker, D., Clutton-Brock, T., Deb, D., D'Udine, B., Foley, R. A., ... & McNamara, J. (2004). Developmental plasticity and human health. *Nature*, 430(6998), 419.
- Becker, K., Blomeyer, D., El-Faddagh, M., Esser, G., Schmidt, M. H., Banaschewski, T., & Laucht, M. (2010). From regulatory problems in infancy to attention-deficit/hyperactivity disorder in childhood: a moderating role for the dopamine D4 receptor gene?. *The Journal of pediatrics*, 156(5), 798-803.
- Beckett, C., Bredenkamp, D., Castle, J., Groothues, C., O'Connor, T.G., Rutter, M. (2002). Behavior patterns associated with institutional deprivation: a study of children adopted from Romania. *J Dev Behav Pediatr* 23:297–303.

- Beebe B, Lachmann F. (1988). The contribution of mother-infant mutual influence to the origins of self- and object representations. *Psychoanalytic Psychology*. 5:305–337.
- Beebe B. (2005). Mother-infant research informs mother-infant treatment. *Psychoanalytic Study of the Child*. 60:7–46.
- Beebe, B., Jaffe, J., Markese, S., Buck, K., Chen, H., Cohen, P., ... & Feldstein, S. (2010). The origins of 12-month attachment: A microanalysis of 4-month mother–infant interaction. *Attachment & human development*, 12(1-2), 3-141.
- Beebe, B., Lachmann, F. (2002). *Infant research and adult treatment: Co-constructing interactions*. Hillsdale, NJ: The Analytic Press.
- Bellinger, F. P., Davidson, M. S., Bedi, K. S., & Wilce, P. A. (2006). Ethanol prevents NMDA receptor reduction by maternal separation in neonatal rat hippocampus. *Brain research*, 1067(1), 154-157.
- Belsky, J., Jonassaint, C., Pluess, M., Stanton, M., Brummett, B., & Williams, R. (2009). Vulnerability genes or plasticity genes?. *Molecular psychiatry*, 14(8), 746.
- Benedek, T. (1952). Personality development. In F. Alexander and H. Ross (Eds.) *Dynamic Psychiatry*. Chicago: University of Chicago Press. pp.63-113.
- Bergeman, C. S., Plomin, R., McClearn, G. E., Pedersen, N. L., & Friberg, L. T. (1988). Genotype × environment interaction in personality development: Identical twins reared apart. *Psychology and aging*, 3(4), 399.
- Berman, C. M. (1990). Intergenerational transmission of maternal rejection rates among free-ranging rhesus monkeys. *Animal Behaviour*, 39(2), 329-337.
- Berryman, J. C., & Windridge, K. C. (1996). Pregnancy after 35 and attachment to the fetus. *Journal of Reproductive and Infant Psychology*, 14(2), 133-143.
- Bibring, G.L. (1959). Some considerations of the psychological processes in pregnancy. *The psychoanalytic Study of the Child*, 14: 113-121.
- Bibring, G.L. (1961). A study of the psychological processes in pregnancy and the earliest mother-child relationship. *The psychoanalytic Study of the Child*, 16: 9-13.
- Bird, A. (2002). DNA methylation patterns and epigenetic memory. *Genes & development*, 16(1), 6-21.
- Bird, A. P. (1986). CpG-rich islands and the function of DNA methylation. *Nature*, 321(6067), 209.
- Birnie, A. K., Taylor, J. H., Cavanaugh, J., & French, J. A. (2013). Quality of maternal and paternal care predicts later stress reactivity in the cooperatively-breeding marmoset (*Callithrix geoffroyi*). *Psychoneuroendocrinology*, 38(12), 3003-3014.

- Bloom, K.C. (1995). "The development of attachment behaviours in pregnant adolescents". In *Nursing Research*, 14, pp. 133-143.
- Boardman, J. D., Blalock, C. L., & Pampel, F. C. (2010). Trends in the genetic influences on smoking. *Journal of health and social behavior*, 51(1), 108-123.
- Boccia, M. L., Goursaud, A. P., Bachevalier, J., Anderson, K. D., & Pedersen, C. A. (2007). Peripherally administered non-peptide oxytocin antagonist, L368,899, accumulates in limbic brain areas: A new pharmacological tool for the study of social motivation in non-human primates. *Hormones and Behavior*, 52, 344–351.
- Boccia, M. L., Goursaud, A. S., Bachevalier, J., & Pedersen, C. A. (2005). Non-peptide oxytocin antagonist, L368,899, reduces interest in infants and sexual behavior in rhesus monkeys when administered peripherally. *Biological psychiatry*, 57, 147S.
- Boparai, S., Borelli, J. L., Partington, L., Smiley, P., Jarvik, E., Rasmussen, H. F., ... & Nurmi, E. L. (2018). Interaction between the opioid receptor OPRM1 gene and mother-child language style matching prospectively predicts children's separation anxiety disorder symptoms. *Research in developmental disabilities*, 82, 120-131.
- Borghol, N., Suderman, M., McArdle, W., Racine, A., Hallett, M., Pembrey, M., ... & Szyf, M. (2011). Associations with early-life socio-economic position in adult DNA methylation. *International journal of epidemiology*, 41(1), 62-74.
- Bornstein, M. (1985). Infant into adult: Unity to diversity in the development of visual categorization. In: Mehler, J.; Fox, R., editors. *Neonate cognition*. Hillsdale, N.J: Lawrence Erlbaum Associates, Inc. p. 115-138.
- Bowlby J. The nature of the child's tie to his mother. *International Journal of Psychoanalysis*. 1958; 39:350–373.
- Bowlby, J. (1958): "The nature of the child's tie to his mother". *International Journal of Psychoanalysis*, 39, pp.350-373.
- Bowlby, J. (1969): *Attaccamento e perdita*, vol. 1: L'attaccamento alla madre. Bollati Boringhieri, Torino, 1972.
- Bowlby, J. (1973). *Attachment and loss: Volume II: Separation, anxiety and anger*. In *Attachment and Loss: Volume II: Separation, Anxiety and Anger* (pp. 1-429). London: The Hogarth Press and the Institute of Psycho-Analysis.
- Bowlby, J. (1977). The making and breaking of affectional bonds: I. Aetiology and psychopathology in the light of attachment theory. *The British journal of psychiatry*, 130(3), 201-210.

- Bowlby, J. (1979): *Costruzione e rottura dei legami affettivi*. Raffaello Cortina Editore, Milano, 1982.
- Bowlby, J. (1980). *Attachment and Loss*. Vol. 3 *Loss, Sadness and Depression*. New York Basic Books.
- Boyce, W. T., Essex, M. J., Alkon, A., Goldsmith, H. H., Kraemer, H. C., & Kupfer, D. (2005). Early father involvement moderates biobehavioral susceptibility to mental health problems in middle childhood. *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry*, 45, 1510–1520.
- Boyce, W. T., Essex, M. J., Alkon, A., Goldsmith, H. H., Kraemer, H. C., & Kupfer, D. J. (2006). Early father involvement moderates biobehavioral susceptibility to mental health problems in middle childhood. *Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry*, 45(12), 1510-1520.
- Brake, W. G., Zhang, T. Y., Diorio, J., Meaney, M. J., & Gratton, A. (2004). Influence of early postnatal rearing conditions on mesocorticolimbic dopamine and behavioural responses to psychostimulants and stressors in adult rats. *European Journal of Neuroscience*, 19(7), 1863-1874.
- Branchi, I., Karpova, N. N., D'Andrea, I., Castrén, E., & Alleva, E. (2011). Epigenetic modifications induced by early enrichment are associated with changes in timing of induction of BDNF expression. *Neuroscience letters*, 495(3), 168-172.
- Branjerdporn, G., Meredith, P., Strong, J., Garcia, J. (2017). Associations between maternal-foetal attachment and infant developmental outcomes: a systematic review. *Matern. Child Health J.* 21, 540-553.
- Braun, K., & Champagne, F. A. (2014). Paternal influences on offspring development: behavioural and epigenetic pathways. *Journal of neuroendocrinology*, 26(10), 697-706.
- Brazelton, T. B., & Nugent, J. K. (1995). *Neonatal behavioral assessment scale* (No. 137). Cambridge University Press.
- Bredy, T. W., Brown, R. E., & Meaney, M. J. (2007). Effect of resource availability on biparental care, and offspring neural and behavioral development in the California mouse (*Peromyscus californicus*). *European Journal of Neuroscience*, 25(2), 567-575.
- Breen, D. (1992). *Fantasia e realtà in gravidanza nel periodo postnatale*. In: Ammaniti, M. (a cura di). *La gravidanza tra fantasia e realtà*. Il Pensiero Scientifico, Roma.

- Bretherton, I. (1980). Young children in stressful situations: The supporting role of attachment figures and unfamiliar caregivers. In: Coelho, G., Ahmed, P., editors. *Uprooting attachment*. (pp. 179-210). New York: Plenum.
- Bretherton, I., & Munholland, K. A. (1999). Internal working models in attachment relationships: A construct revisited.
- Britton, J. R., Britton, H. L., & Gronwaldt, V. (2006). Breastfeeding, sensitivity, and attachment. *Pediatrics*, 118, e1436–e1443.
- Buhimschi, C. S. (2004). Endocrinology of lactation. *Obstetrics and Gynecology Clinics of North America*, 31, 963–979. XII.
- Burton, C. L., Chatterjee, D., Chatterjee-Chakraborty, M., Lovic, V., Grella, S. L., Steiner, M., & Fleming, A. S. (2007). Prenatal restraint stress and motherless rearing disrupts expression of plasticity markers and stress-induced corticosterone release in adult female Sprague-Dawley rats. *Brain Research*, 1158, 28–38.
- Button, T. M., Corley, R. P., Rhee, S. H., Hewitt, J. K., Young, S. E., & Stallings, M. C. (2007). Delinquent peer affiliation and conduct problems: A twin study. *Journal of abnormal psychology*, 116(3), 554.
- Caccia, N., Johnson, J.M., Robinson G.E., Barna, T. (1991). “Impact of prenatal testing on maternal-fetal bonding: chorionic villus sampling verses amniocentesis. In *American Journal of Psychosomatic Obstetrics and Gynecology*, 165, pp. 1122-1125.
- Cadoret, R.J., Troughton, E., Merchant, L.M., Whitters, A. (1990). Early life psychosocial events and adult affective symptoms. *Robbins & Rutter*, 300-13.
- Caldji, C., Diorio, J., & Meaney, M. J. (2003). Variations in maternal care alter GABA A receptor subunit expression in brain regions associated with fear. *Neuropsychopharmacology*, 28(11), 1950.
- Caldji, C., Diorio, J., Anisman, H., & Meaney, M. J. (2004). Maternal behavior regulates benzodiazepine/GABA A receptor subunit expression in brain regions associated with fear in BALB/c and C57BL/6 mice. *Neuropsychopharmacology*, 29(7), 1344.
- Caldji, C., Francis, D., Sharma, S., Plotsky, P. M., & Meaney, M. J. (2000). The effects of early rearing environment on the development of GABAA and central benzodiazepine receptor levels and novelty-induced fearfulness in the rat. *Neuropsychopharmacology*, 22(3), 219-229.
- Cannella, B.L. (2005). Maternal-fetal attachment: an integrative review. In *Journal of Advanced Nursing*, 50(1), pp. 60-68.

- Cannon, T. D., Mednick, S. A., Parnas, J., Schulsinger, F., Praestholm, J., & Vestergaard, A. (1993). Developmental brain abnormalities in the offspring of schizophrenic mothers: I. Contributions of genetic and perinatal factors. *Archives of general psychiatry*, 50(7), 551-564.
- Cardenas, A., Faleschini, S., Hidalgo, A. C., Rifas-Shiman, S. L., Baccarelli, A. A., DeMeo, D. L., ... & El Marroun, H. (2019). Prenatal maternal antidepressants, anxiety, and depression and offspring DNA methylation: epigenome-wide associations at birth and persistence into early childhood. *Clinical epigenetics*, 11(1), 56.
- Carroll, K. A., & Maestripieri, D. (1998). Infant abuse and neglect in monkeys—a discussion of definitions, epidemiology, etiology, and implications for child maltreatment: Reply to Cicchetti (1998) and Mason (1998).
- Carter, C. S., & Keverne, E. B. (2002). The neurobiology of social affiliation and pair bonding. In D. W. Pfaff (Ed.), *Hormones, brain, and behavior* (pp. 299–337). San Diego: Academic.
- Caspi, A., Hariri, A. R., Holmes, A., Uher, R., & Moffitt, T. E. (2010). Genetic sensitivity to the environment: the case of the serotonin transporter gene and its implications for studying complex diseases and traits. *American journal of Psychiatry*, 167(5), 509-527.
- Caspi, A., McClay, J., Moffitt, T. E., Mill, J., Martin, J., Craig, I. W., ... & Poulton, R. (2002). Role of genotype in the cycle of violence in maltreated children. *Science*, 297(5582), 851-854.
- Caspi, A., Sugden, K., Moffitt, T. E., Taylor, A., Craig, I. W., Harrington, H., ... & Poulton, R. (2003). Influence of life stress on depression: moderation by a polymorphism in the 5-HTT gene. *Science*, 301(5631), 386-389.
- Caspi, A., Williams, B., Kim-Cohen, J., Craig, I. W., Milne, B. J., Poulton, R., et al (2007). Moderation of breastfeeding effects on the IQ by genetic variation in fatty acid metabolism. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104, 18860–18865.
- Cecchini, M., Baroni, E., Di Vito, C., Piccolo, F., Aceto, P., & Lai, C. (2013). Effects of different types of contingent tactile stimulation on crying, smiling, and sleep in newborns: An observational study. *Developmental Psychobiology*, 55(5), 508-517.
- Cecchini, M., Baroni, E., Di Vito, C., Piccolo, F., Aceto, P., & Lai, C. (2013). Effects of different types of contingent tactile stimulation on crying, smiling, and sleep in newborns: An observational study. *Dev Psychobiol*, 55, 508-517.

- Champagne, F. A. (2008). Epigenetic mechanisms and the transgenerational effects of maternal care. *Frontiers in neuroendocrinology*, 29(3), 386-397.
- Champagne, F. A., & Curley, J. P. (2009). Epigenetic mechanisms mediating the long-term effects of maternal care on development. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 33(4), 593-600.
- Champagne, F. A., & Curley, J. P. (2011). Epigenetic influence of the social environment. In *Brain, behavior and epigenetics* (pp. 185-208). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Champagne, F. A., & Meaney, M. J. (2006). Stress during gestation alters postpartum maternal care and the development of the offspring in a rodent model. *Biological psychiatry*, 59(12), 1227-1235.
- Champagne, F. A., & Meaney, M. J. (2007). Transgenerational effects of social environment on variations in maternal care and behavioral response to novelty. *Behavioral neuroscience*, 121(6), 1353.
- Champagne, F. A., Curley, J. P., Keverne, E. B., & Bateson, P. P. (2007). Natural variations in postpartum maternal care in inbred and outbred mice. *Physiology & behavior*, 91(2-3), 325-334.
- Champagne, F. A., Francis, D. D., Mar, A., & Meaney, M. J. (2003). Variations in maternal care in the rat as a mediating influence for the effects of environment on development. *Physiology & behavior*, 79(3), 359-371.
- Champagne, F., Diorio, J., Sharma, S., & Meaney, M. J. (2001). Naturally occurring variations in maternal caretaking behavior in the rat are associated with differences in estrogen-inducible central oxytocin receptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98, 12736–12741.
- Chatoor, I., Getson, P., Loeffler, C., McGee, M., and Menvielle, E. (1998). *Observational Scale for Mother-Infant Interaction during Feeding, Manual, 2 Edn.* Washington, DC: Children's National Medical Center.
- Chen, B. H., Marioni, R. E., Colicino, E., Peters, M. J., Ward-Caviness, C. K., Tsai, P. C., ... & Bressler, J. (2016). DNA methylation-based measures of biological age: meta-analysis predicting time to death. *Aging (Albany NY)*, 8(9), 1844.
- Chester, D. S., DeWall, C. N., Derefinko, K. J., Estus, S., Peters, J. R., Lynam, D. R., & Jiang, Y. (2015). Monoamine oxidase A (MAOA) genotype predicts greater aggression through impulsive reactivity to negative affect. *Behavioural brain research*, 283, 97-101.

- Chugani, H. T., Behen, M. E., Muzik, O., Juhász, C., Nagy, F., & Chugani, D. C. (2001). Local brain functional activity following early deprivation: a study of postinstitutionalized Romanian orphans. *Neuroimage*, 14(6), 1290-1301.
- Cimino, S., Cerniglia, L., Ballarotto, G., Marzilli, E., Pascale, E., D'Addario, C., ... & Tambelli, R. (2018). DNA Methylation at the DAT Promoter and Risk for Psychopathology: Intergenerational Transmission between School-Age Youths and Their Parents in a Community Sample. *Frontiers in psychiatry*, 8, 303.
- Clement, G., & Benhattar, J. (2005). A methylation sensitive dot blot assay (MS-DBA) for the quantitative analysis of DNA methylation in clinical samples. *Journal of clinical pathology*, 58(2), 155-158.
- Cohen, S. (1988). Perceived stress in a probability sample of the United States.
- Cohen, S., Kamarck, T., & Mermelstein, R. (1994). Perceived stress scale. *Measuring stress: A guide for health and social scientists*, 10.
- Collins, W. A., Maccoby, E. E., Steinberg, L., Hetherington, E. M., & Bornstein, M. H. (2000). Contemporary research on parenting: The case for nature and nurture. *American psychologist*, 55(2), 218.
- Condon, J., Corkindale, C., Boyce, P., & Gamble, E. (2013). A longitudinal study of father-to-infant attachment: antecedents and correlates. *Journal of Reproductive and Infant Psychology*, 31(1), 15-30.
- Condon, J.T. (1993). "The assessment of antenatal emotional attachment": Developments of a questionnaire instrument. In *British Journal of Medical Psychology*, 66, pp. 167-183.
- Condon, J.T., Boyce, P., & Corkindale, C.J. (2004). The first-time fathers' study: A prospective study of the mental health and well-being of men during the transition to parenthood. *Australia and New Zealand Journal of Psychiatry*, 38, 56-64.
- Condon, J.T., Corkindale, C. (1997). The correlates of antenatal attachment in pregnant women. *Journal of Medical Psychology*, 70: 359-372.
- Conradt, E., Hawes, K., Guerin, D., Armstrong, D. A., Marsit, C. J., Tronick, E., & Lester, B. M. (2016). The contributions of maternal sensitivity and maternal depressive symptoms to epigenetic processes and neuroendocrine functioning. *Child Development*, 87, 73-85.
- Conradt, E., Hawes, K., Guerin, D., Armstrong, D. A., Marsit, C. J., Tronick, E., & Lester, B. M. (2016). The contributions of maternal sensitivity and maternal depressive symptoms to epigenetic processes and neuroendocrine functioning. *Child Dev*, 87, 73-85.

- Cooper, R. M., & Zubek, J. P. (1958). Effects of enriched and restricted early environments on the learning ability of bright and dull rats. *Canadian Journal of Psychology/Revue canadienne de psychologie*, 12(3), 159.
- Coplan, J. D., Altemus, M., Mathew, S. J., Smith, E. L., Scharf, B., Coplan, P. M., ... & Rosenblum, L. A. (2005). Synchronized maternal-infant elevations of primate CSF CRF concentrations in response to variable foraging demand. *CNS spectrums*, 10(7), 530-536.
- Coplan, J. D., Rosenblum, L. A., & Gorman, J. M. (1995). Primate models of anxiety: longitudinal perspectives. *Psychiatric Clinics of North America*, 18(4), 727-743.
- Corter, C., & Fleming, A. S. (2002). Psychobiology of maternal behavior in human beings. In M. H. Bornstein (Ed.), *Handbook of parenting: Biology and ecology of parenting* (pp. 141–182). Mahwah: Erlbaum.
- Cranley, M. S. (1981). Development of a tool for the measurement of maternal attachment during pregnancy. In *Nursing research*, 30, pp. 281-284.
- Crittenden, P. M. (1990). Internal representational models of attachment relationships. *Infant Mental Health Journal*, 11(3), 259-277.
- Crockford, C., Deschner, T., Ziegler, T. E., & Wittig, R. M. (2014). Endogenous peripheral oxytocin measures can give insight into the dynamics of social relationships: A review. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 8, 68.
- Da Costa, A. P., Guevara-Guzman, R. G., Ohkura, S., Goode, J. A., & Kendrick, K. M. (1996). The role of oxytocin release in the paraventricular nucleus in the control of maternal behaviour in the sheep. *Journal of Neuroendocrinology*, 8, 163–177.
- Daglar, G., & Nur, N. (2018). Level of mother-baby bonding and influencing factors during pregnancy and postpartum period. *Psychiatria Danubina*, 30(4), 433-440.
- Davis, M., Thomassin, K., Bilms, J., Suveg, C., Shaffer, A., & Beach, S. R. (2017). Preschoolers' genetic, physiological, and behavioral sensitivity factors moderate links between parenting stress and child internalizing, externalizing, and sleep problems. *Developmental psychobiology*, 59(4), 473-485.
- De Wolff, M. S., & Van IJzendoorn, M. H. (1997). Sensitivity and attachment: A meta-analysis on parental antecedents of infant attachment. *Child Development*, 68, 571–591.
- Della Vedova, A. M., Dabrassi, F., & Imbasciati, A. (2008). Assessing prenatal attachment in a sample of Italian women. *Journal of Reproductive and Infant Psychology*, 26(2), 86-98.

- Della Vedova, A., Imbasciati, A. (1998). Alle origini della mente: lo studio della vita psichica fetale. *Giornale di Neuropsichiatria dell'Età Evolutiva*, 18, 374:155-168.
- Della Vedova, A.M., Imbasciati, A. (2005). Le origini della mente. In Imbasciati, A., Margiotta, M. (a cura di). *Compendio di psicologia per operatori sociosanitari*. Piccin, Padova.
- Derogatis, L. R. (1983). *Scl-90-R: Administration. Scoring and Procedure Manual-II for the revised version*, Tawson, Clinical Psychometric Research.
- Dettmer, A. M., & Suomi, S. J. (2014). Nonhuman primate models of neuropsychiatric disorders: influences of early rearing, genetics, and epigenetics. *ILAR journal*, 55(2), 361-370.
- Devlin, A. M., Brain, U., Austin, J., & Oberlander, T. F. (2010). Prenatal exposure to maternal depressed mood and the MTHFR C677T variant affect SLC6A4 methylation in infants at birth. *PloS one*, 5(8), e12201.
- Dick, D. M. (2011). Gene-environment interaction in psychological traits and disorders. *Annual review of clinical psychology*, 7, 383-409.
- Dick, D. M., Rose, R. J., Viken, R. J., Kaprio, J., & Koskenvuo, M. (2001). Exploring gene-environment interactions: Socioregional moderation of alcohol use. *Journal of abnormal psychology*, 110(4), 625.
- Dubber, S., Reck, C., Müller, M., Gawlik, S. (2015). Postpartum bonding: the role of perinatal depression, anxiety and maternal-fetal bonding during pregnancy. *Arch. Womens Ment. Health* 18, 187-195.
- Duman, R. S., & Monteggia, L. M. (2006). A neurotrophic model for stress-related mood disorders. *Biol Psychiatry*, 59, 1116-27.
- Dunford, A. R., & Sangster, J. M. (2017). Maternal and paternal periconceptional nutrition as an indicator of offspring metabolic syndrome risk in later life through epigenetic imprinting: a systematic review. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*, 11, S655-S662.
- Vreeswijk, C. M., Maas, A. J., Rijk, C. H., & van Bakel, H. J. (2014). Fathers' experiences during pregnancy: Paternal prenatal attachment and representations of the fetus. *Psychology of Men & Masculinity*, 15(2), 129.
- Ebstein, R. P. (2006). The molecular genetic architecture of human personality: beyond self-report questionnaires. *Molecular psychiatry*, 11(5), 427.

- Ebstein, R. P., Levine, J., Geller, V., Auerbach, J., Gritsenko, I., & Belmaker, R. H. (1998). Dopamine D4 receptor and serotonin transporter promoter in the determination of neonatal temperament. *Molecular psychiatry*, 3(3), 238.
- Egliston, K. A., McMahon, C., & Austin, M. P. (2007). Stress in pregnancy and infant HPA axis function: conceptual and methodological issues relating to the use of salivary cortisol as an outcome measure. *Psychoneuroendocrinology*, 32(1), 1-13.
- Ellis, B. J., & Boyce, W. T. (2008). Biological sensitivity to context. *Current directions in psychological science*, 17(3), 183-187.
- Ellis, B. J., Essex, M. J., & Boyce, W. T. (2005). Biological sensitivity to context: II. Empirical explorations of an evolutionary–developmental theory. *Development and psychopathology*, 17(2), 303-328.
- Ellis, B. J., McFadyen-Ketchum, S., Dodge, K. A., Pettit, G. S., & Bates, J. E. (1999). Quality of early family relationships and individual differences in the timing of pubertal maturation in girls: a longitudinal test of an evolutionary model. *Journal of personality and social psychology*, 77(2), 387.
- Else-Quest, N.-M., Hyde, N.-S., & Clark, R. (2003). Breastfeeding, bonding, and the mother–infant relationship. *Merrill-Palmer- Quarterly*, 49, 495–517.
- Ember, C. R., & Ember, M. (1994). War, socialization, and interpersonal violence: A cross-cultural study. *Journal of Conflict Resolution*, 38(4), 620-646.
- Erikson, E. H. (1950). Growth and crises of the "healthy personality." In M. J. E. Senn (Ed.), *Symposium on the healthy personality*. Oxford, England. pp. 91-146
- Erikson, E. H. (1959). *Identity and the life cycle*. New York: International University Press.
- Escalona, S. (1953). Emotional development in the first year of life. *Problems of infancy and childhood*, 6, 11-92. New York: Josah Macy Jr. Foundation 1950. pp. 91-146
- Esposito, E. A., Jones, M. J., Doom, J. R., MacIsaac, J. L., Gunnar, M. R., & Kobor, M. S. (2016). Differential DNA methylation in peripheral blood mononuclear cells in adolescents exposed to significant early but not later childhood adversity. *Development and Psychopathology*, 28, 1385– 1399
- Essex, M. J., Thomas Boyce, W., Hertzman, C., Lam, L. L., Armstrong, J. M., Neumann, S. M., & Kobor, M. S. (2013). Epigenetic vestiges of early developmental adversity: childhood stress exposure and DNA methylation in adolescence. *Child development*, 84(1), 58-75.
- Eyer, D. E. (1992). *Mother–infant bonding: A scientific fiction*. New Haven: Yale University Press.

- Fagen J, Morrongiello B, Rovee-Collier C, Gekoski M. (1984). Expectancies and memory retrieval in threemonth-old infants. *Child Development*. 55:936–943.
- Fairbairn, W.R. (1954). *Studi psicoanalitici sulla personalità*. Bollati Boringhieri, Torino, 1970.
- Fairbairn, W.R.D. (1952). *Studi psicoanalitici sulla personalità*, Bollati Boringhieri, Torino, 1992.
- Fan M., Liu B., Jiang T., Jiang X., Zhao H., & Zhang J. (2010). Meta-analysis of the association between the monoamine oxidase-A gene and mood disorders. *Psychiatric Genetics*, 20, 1–7.
- Feeney, J. A., Noller, P., & Hanrahan, M. (1994). Assessing adult attachment.
- Feinberg, M. E., Button, T. M., Neiderhiser, J. M., Reiss, D., & Hetherington, E. M. (2007). Parenting and adolescent antisocial behavior and depression: Evidence of genotype× parenting environment interaction. *Archives of general psychiatry*, 64(4), 457-465.
- Feldman, R., Weller, A., Leckman, J. F., Kuint, J., & Eidelman, A. I. (1999). The nature of the mother's tie to her infant: Maternal bonding under conditions of proximity, separation, and potential loss. *Journal of Child Psychology and Psychiatry, and Allied Disciplines*, 40, 929–939.
- Feldman, R., Weller, A., Leckman, J. F., Kuint, J., & Eidelman, A. I. (1999). The nature of the mother's tie to her infant: Maternal bonding under conditions of proximity, separation, and potential loss. *Journal of Child Psychology and Psychiatry, and Allied Disciplines*, 40, 929–939.
- Ferenczi, S. (1909, 1931). *Fondamenti di psicoanalisi*, voll. 1 e 4. Guaraldi, Rimini 1974
- Ferguson-Smith, A.C. (2011). "Genomic imprinting: the emergence of an epigenetic paradigm". *Nature Reviews Genetics*. 12 (8): 565–75.
- Fivaz-Depeursinge, E., Corboz-Warnery, A. (1999). *Il triangolo primario*. Raffaello Cortina Editore. Milano, 2000.
- Fletcher, R. J., Freeman, E., Garfield, C., & Vimpani, G. (2011). The effects of early paternal depression on children's development. *Medical Journal of Australia*, 195, 685–689.
- Flinn, M. V., & England, B. G. (1997). Social economics of childhood glucocorticoid stress response and health. *American Journal of Physical Anthropology: The Official Publication of the American Association of Physical Anthropologists*, 102(1), 33-53.
- Fonagy, P., & Target, M (2003). *Psicopatologia evolutiva - Le teorie psicoanalitiche*. Raffaello Cortina Editore Milano, 2005.

- Fonagy, P., Target, M. (2001). *Attaccamento e funzione riflessiva*. Raffaello Cortina Editore.
- Fox N. The development of emotion regulation. *Monographs of the Society for Research in Child Development*. 1994; 59(2–3, Serial No. 240).
- Fox, S. E., Levitt, P., & Nelson, C. A. (2010). How the timing and quality of early experiences influence the development of brain architecture. *Child Development*, 81, 28–40.
- Francis, D. D., Champagne, F. C., & Meaney, M. J. (2000). Variations in maternal behaviour are associated with differences in oxytocin receptor levels in the rat. *Journal of Neuroendocrinology*, 12, 1145–1148.
- Francis, D., Diorio, J., Liu, D., & Meaney, M. J. (1999). Nongenomic transmission across generations of maternal behavior and stress responses in the rat. *Science*, 286(5442), 1155-1158.
- Freud, A. (1946). The psychoanalytic study of infantile feeding disturbances. *The Psychoanalytic Study of the Child*, 2(1), 119-132.
- Freud, A. (1954). *Psicoanalisi ed educazione*. 2012. Boringhieri, Torino.
- Freud, A. (1965). *Normality and pathology in childhood: Assessments of development*. New York: International University Press.
- Freud, S. (1905). *Tre saggi sulla teoria sessuale*. Bur, 2011.
- Freud, S. (1905). *Tre saggi sulla teoria sessuale*. In: *Opere di Sigmund Freud*, Freud, S. & Breuer, J., (1893-1895). *Studi sull'isteria*. OSF. Vol. 1.
- Freud, S. (1931). *Sessualità femminile*. *Opere di Sigmund Freud*, 11. Boringhieri, Torino.
- Freud, S. (1978). *Inibizione, sintomo e angoscia* OSF, vol. X, 1926. Boringhieri, Torino.
- Fries, A. B. W., Shirtcliff, E. A., & Pollak, S. D. (2008). Neuroendocrine dysregulation following early social deprivation in children. *Developmental Psychobiology: The Journal of the International Society for Developmental Psychobiology*, 50(6), 588-599.
- Fuller, S., Moore, L., Lester, J. (1993). "Influence of family functioning on maternal-fetal attachment. In *Journal of Perinatology*, 13, pp. 453-460.
- Gawlik, S., Müller, M., Hoffmann, L., Dienes, A., Wallwiener, M., Sohn, C., ... & Reck, C. (2014). Prevalence of paternal perinatal depressiveness and its link to partnership satisfaction and birth concerns. *Archives of women's mental health*, 17(1), 49-56.
- Gerra, G., Leonardi, C., Cortese, E., Zaimovic, A., Dell'Agnello, G., Manfredini, M., ... & Donnini, C. (2008). *CLINICAL STUDY: Adrenocorticotrophic hormone and cortisol*

- plasma levels directly correlate with childhood neglect and depression measures in addicted patients. *Addiction biology*, 13(1), 95-104.
- Gilbert, S. F. (2006). *Developmental Biology*, Eight Edition. Sunderland, MA: Sinauer Associates.
- Giusti, L., Provenzi, L., Tavian, D., Missaglia, S., Butti, N., & Montirosso, R. (2017). The BDNFval66met polymorphism and individual differences in temperament in 4-month-old infants: A pilot study. *Infant behavior and development*, 47, 22-26.
- Gluckman, P. D., & Hanson, M. A. (2004). Living with the past: evolution, development, and patterns of disease. *Science*, 305(5691), 1733-1736.
- Gluckman, P. D., & Hanson, M. A. (2007). Developmental plasticity and human disease: research directions. *Journal of internal medicine*, 261(5), 461-471.
- Gluckman, P. D., Hanson, M. A., Cooper, C., & Thornburg, K. L. (2008). Effect of in utero and early-life conditions on adult health and disease. *New England Journal of Medicine*, 359(1), 61-73.
- Godfrey, K. M., & Barker, D. J. (2001). Fetal programming and adult health. *Public health nutrition*, 4(2b), 611-624.
- Goebel, A., Stuhmann, L. Y., Harder, S., Schulte-Markwort, M., & Mudra, S. (2018). The association between maternal-fetal bonding and prenatal anxiety: An explanatory analysis and systematic review. *Journal of affective disorders*, 239, 313-327.
- Goecke, T. W., Voigt, F., Faschingbauer, F., Spangler, G., Beckmann, M. W., & Beetz, A. (2012). The association of prenatal attachment and perinatal factors with pre- and postpartum depression in first-time mothers. *Archives of gynecology and obstetrics*, 286(2), 309-316.
- Gonzalez, I., Polvillo, R., Ruiz-Galdon, M., Reyes-Engel, A., & Royo, J. L. (2019). Dysmorphic contribution of neurotransmitter and neuroendocrine system polymorphisms to subtherapeutic mood states. *Brain and behavior*, 9(2), e01140.
- Gorman, J. M., Mathew, S., & Coplan, J. (2002, April). Neurobiology of early life stress: nonhuman primate models. In *Seminars in clinical neuropsychiatry* (Vol. 7, No. 2, pp. 96-103).
- Gottesman, I. I. (1991). *Schizophrenia genesis: The origins of madness*. WH Freeman/Times Books/Henry Holt & Co.
- Grassi-Oliveira, R., Stein, L. M., Lopes, R. P., Teixeira, A. L., & Bauer, M. E. (2008). Low plasma brain-derived neurotrophic factor and childhood physical neglect are associated

- with verbal memory impairment in major depression—a preliminary report. *Biological psychiatry*, 64(4), 281-285.
- Green, R. F., Devine, O., Crider, K. S., Olney, R. S., Archer, N., Olshan, A. F., ... & Study, T. N. B. D. P. (2010). Association of paternal age and risk for major congenital anomalies from the National Birth Defects Prevention Study, 1997 to 2004. *Annals of epidemiology*, 20(3), 241-249.
- Grossmann, K., Grossmann, K. E., Fremmer-Bombik, E., Kindler, H., Scheuerer-Englisch, H., & Zimmermann, A. P. (2002). The uniqueness of the child–father attachment relationship: Fathers’ sensitive and challenging play as a pivotal variable in a 16-year longitudinal study. *Social development*, 11(3), 301-337.
- Grunstein, M. (1997). Histone acetylation in chromatin structure and transcription. *Nature*, 389(6649), 349.
- Hake, S. B., & Allis, C. D. (2006). Histone H3 variants and their potential role in indexing mammalian genomes: the “H3 barcode hypothesis”. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(17), 6428-6435.
- Hane, A. A., & Fox, N. A. (2006). Ordinary variations in maternal caregiving influence human infants’ stress reactivity. *Psychological Science*, 17, 550–556.
- Hane, A. A., & Philbrook, L. E. (2012). Beyond licking and grooming: Maternal regulation of infant stress in the context of routine care. *Parenting, Science and Practice*, 12, 144–153.
- Hane, A. A., Henderson, H. A., Reeb-Sutherland, B. C., & Fox, N. A. (2010). Ordinary variations in human maternal caregiving in infancy and biobehavioral development in early childhood: A follow-up study. *Developmental Psychobiology*, 52, 558–567.
- Hanson, L. A. (1998). Breastfeeding provides passive and likely long-lasting active immunity. *Annals of Allergy, Asthma and Immunology*, 81(6), 523–533.
- Harlow, H. F. (1958). The nature of love. *American Psychologist*, 13(12), 673.
- Harlow, H. F., Dodsworth, R. O., & Harlow, M. K. (1965). Total social isolation in monkeys. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 54(1), 90.
- Harper, L. (2005). Epigenetic inheritance and the intergenerational transfer of experience. *Psychological bulletin*, 131(3), 340.
- Harris, J. R. (1995). Where is the child's environment? A group socialization theory of development. *Psychological review*, 102(3), 458.

- Harris, J. R. (1998). The nurture assumption: Why children turn out the way they do. *Adolescence*, 33(132), 960.
- Hartmann, H. (1939). *Psicologia dell'Io e problema dell'adattamento*. Tr. It. Boringhieri, Torino 1966.
- Hartmann, H. (1955). Note sulla teoria della sublimazione. Tr. It. In *Saggi sulla psicologia dell'Io*. Boringhieri, Torino 1976.
- Hartmann, H., Kris, H., Loewenstein, R.M. (1949). "Note sulla teoria dell'aggressività". Tr.It. In "Scritti di psicologia psicoanalitica." Boringhieri, Torino 1978, 65-97.
- Heidrich, S., Cranley, M. (1989). Effect of fetal movement, ultrasound scans and amniocentesis on maternal-fetal attachment". In *Nursing Research*, 38, pp. 81-84.
- Heinrichs, M., Meinschmidt, G., Neumann, I., Wagner, S., Kirschbaum, C., Ehlert, U., et al (2001). Effects of suckling on hypothalamic–pituitary–adrenal axis responses to psychosocial stress in postpartum lactating women. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 86, 4798–4804.
- Helmeke, C., Seidel, K., Poeggel, G., Bredy, T. W., Abraham, A., & Braun, K. (2009). Paternal deprivation during infancy results in dendrite-and time-specific changes of dendritic development and spine formation in the orbitofrontal cortex of the biparental rodent *Octodon degus*. *Neuroscience*, 163(3), 790-798.
- Holliday, R. (1989). DNA methylation and epigenetic mechanisms. *Cell biophysics*, 15(1-2), 15-20.
- Holman, S. D., & Goy, R. W. (1995). Experimental and hormonal correlates of caregiving in rhesus macaques. In C. R. Pryce, R. D. Martin, & D. Skuse (Eds.), *Motherhood in human and nonhuman primates biosocial determinants* (pp. 87–93). Basel: Karger.
- Holmboe, K., Nemoda, Z., Fearon, R. M. P., Sasvari-Szekely, M., & Johnson, M. H. (2011). Dopamine D4 receptor and serotonin transporter gene effects on the longitudinal development of infant temperament. *Genes, Brain and Behavior*, 10(5), 513-522.
- Horvath, S. (2013). "DNA methylation age of human tissues and cell types". *Genome Biology*. 14 (10): R115
- Imbasciati, A. (1998). *Nascita e costruzione della mente*. UTET Libreria, Torino.
- Imbasciati, A. (2006). *Constructing a Mind. A new basis for psychoanalytic theory*, Brunner-Routledge, London.
- Insel, T. (1997). A neurobiological basis of social attachment. *American Journal of Psychiatry*, 154, 726–735.

- Insel, T. R. (2003). Is social attachment an addictive disorder? *Physiology & Behavior*, 79, 351–357.
- Isabella, R. A., & Belsky, J. (1991). Interactional synchrony and the origins of infant-mother attachment: A replication study. *Child Development*, 62, 373–384.
- Isabella, R. A., Belsky, J., & von Eye, A. (1989). Origins of infant–mother attachment: An examination of interactional synchrony during the infant’s first year. *Developmental Psychology*, 25, 12–21.
- Jaffe, J., Beebe, B., Feldstein, S., Crown, C. L., & Jasnow, M. D. (2001). II. Literature review. *Monographs of the society for research in child development*, 66, 8–38.
- James, W. (1890). *The principles of psychology*. Praeger, New York. Trad. it.: *Principi di psicologia*. Società Editrice Libreria, Milano, 1901.
- Jansen, J., de Weerth, C., & Riksen-Walraven, J. M. (2008). Breastfeeding and the mother–infant relationship—a review. *Developmental review*, 28(4), 503-521.
- Jenuwein, T., & Allis, C. D. (2001). Translating the histone code. *Science*, 293(5532), 1074-1080.
- Jirtle, R. L., & Skinner, M. K. (2007). Environmental epigenomics and disease susceptibility. *Nature reviews genetics*, 8(4), 253.
- Jirtle, R. L., & Skinner, M. K. (2007). Environmental epigenomics and disease susceptibility. *Nature reviews genetics*, 8(4), 253.
- Johnston, J. M., & Amico, J. A. (1986). A prospective longitudinal study of the release of oxytocin and prolactin in response to infant suckling in long term lactation. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 62, 653–657.
- Jones, M. J., Goodman, S. J., & Kober, M. S. (2015). DNA methylation and healthy human aging. *Aging cell*, 14(6), 924-932.
- Jones, P. A. (2012). Functions of DNA methylation: islands, start sites, gene bodies and beyond. *Nature Reviews Genetics*, 13(7), 484.
- Jutapakdeegul, N., Casalotti, S. O., Govitrapong, P., & Kotchabhakdi, N. (2003). Postnatal touch stimulation acutely alters corticosterone levels and glucocorticoid receptor gene expression in the neonatal rat. *Developmental Neuroscience*, 25, 26–33.
- Kader, F., Ghai, M., & Maharaj, L. (2018). The effects of DNA methylation on human psychology. *Behavioural brain research*, 346, 47-65.
- Kantrowitz-Gordon, I., Cunningham, E., & Reynolds, N. (2019). Measurement of Maternal Mindful Awareness of Fetal Movement. *Journal of Midwifery & Women's Health*.

- Kavanaugh, K., Meier, P., Zimmermann, B., & Mead, L. (1997). The rewards outweigh the efforts: breastfeeding outcomes for mothers of preterm infants. *Journal of Human Lactation*, 13, 15–21.
- Kendler, K. S. (1993). Twin studies of psychiatric illness: current status and future directions. *Archives of general psychiatry*, 50(11), 905-915.
- Kendler, K. S. (2001). Twin studies of psychiatric illness: an update. *Archives of general psychiatry*, 58(11), 1005-1014.
- Kendler, K. S. (2011). A conceptual overview of gene-environment interaction and correlation in a developmental context. *The dynamic genome and mental health: The role of genes and environments in youth development*, 5-28.
- Kendler, K. S., & Eaves, L. J. (1986). Models for the joint effect of genotype and environment on liability to psychiatric illness. *The American journal of psychiatry*.
- Kendrick, K. M. (2000). Oxytocin, motherhood and bonding. *Experimental Physiology*, 85, 111S–124S.
- Kendrick, K. M., Da Costa, A. P., Broad, K. D., Ohkura, S., Guevara, R., Levy, F., et al (1997). Neural control of maternal behaviour and olfactory recognition of offspring. *Brain Research Bulletin*, 44, 383–395.
- Kendrick, K. M., Keverne, E. B., & Baldwin, B. A. (1987). Intracerebroventricular oxytocin stimulates maternal behaviour in the sheep. *Neuroendocrinology*, 46, 56–61.
- Kennell, J., Klaus, J.H. (1976). *Maternal-infant bonding*. Mosby, St. Louis, MO.
- Kennell, J., Klaus, M.H. (1984). *Mother-infant bonding: Weighing the evidence*. *Developmental Review*, 4: 275-282.
- Kentner, A. C., Abizaid, A., & Bielajew, C. (2010). Modeling dad: animal models of paternal behavior. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 34(3), 438-451.
- Kerstis, B., Engström, G., Sundquist, K., Widarsson, M., & Rosenblad, A. (2012). The association between perceived relationship discord at childbirth and parental postpartum depressive symptoms: a comparison of mothers and fathers in Sweden. *Upsala journal of medical sciences*, 117(4), 430-438.
- Keverne, E. B. (2006). Neurobiological and molecular approaches to attachment and bonding. In C. S. Carter, L. Ahnert, K. E. Grossmann, S. B. Hrdy, M. E. Lamb, & S. W. Porges, et al. (Eds.), *Attachment and bonding: A new synthesis* (pp. 101–118). Cambridge, MA: The MIT Press.

- Kheirabadi, G. R., Maracy, M. R., Akbaripour, S., & Masaeli, N. (2012). Psychometric properties and diagnostic accuracy of the edinburgh postnatal depression scale in a sample of Iranian women. *Iranian journal of medical sciences*, 37(1), 32.
- Kleiman, D. G., & Malcolm, J. R. (1981). The evolution of male parental investment in mammals. In *Parental care in mammals* (pp. 347-387). Springer, Boston, MA.
- Klose, R. J., & Bird, A. P. (2006). Genomic DNA methylation: the mark and its mediators. *Trends in biochemical sciences*, 31(2), 89-97.
- Klose, R. J., & Bird, A. P. (2006). Genomic DNA methylation: the mark and its mediators. *Trends in biochemical sciences*, 31(2), 89-97.
- Korja, R., Nolvi, S., Kataja, E. L., Scheinin, N., Junttila, N., Lahtinen, H., ... & Karlsson, H. (2018). The courses of maternal and paternal depressive and anxiety symptoms during the prenatal period in the FinnBrain Birth Cohort study. *PloS one*, 13(12), e0207856.
- Korosi, A., Baram, T.Z. (2009). The pathways from mother's love to baby's future. *Front Behav Neurosci* 3:27.
- Kris, E. (1951). Some comments and observations on early autoerotic activities. *The psychoanalytic study of the child*, 6(1), 95-116.
- Labbok, M. H. (2001). Effects of breastfeeding on the mother. *Pediatric clinics of North America*, 48, 143–158.
- Ladd, C. O., Huot, R. L., Thrivikraman, K. V., Nemeroff, C. B., & Plotsky, P. M. (2004). Long-term adaptations in glucocorticoid receptor and mineralocorticoid receptor mRNA and negative feedback on the hypothalamo-pituitary-adrenal axis following neonatal maternal separation. *Biological psychiatry*, 55(4), 367-375.
- Lakatos, K., Nemoda, Z., Birkas, E., Rónai, Z., Kovacs, E., Ney, K., ... & Gervai, J. (2003). Association of D4 dopamine receptor gene and serotonin transporter promoter polymorphisms with infants' response to novelty. *Molecular Psychiatry*, 8(1), 90.
- Lamas, C., et al. (2006). Alexithymia in infertile woman. *Journal of Psychosomatic Obstetrics and Gynaecology*, 27(1), 23–30.
- Lamb, M. E. (1982). The bonding phenomenon: Misinterpretations and their implications. *Journal of pediatrics*, 101, 555–557.
- Lamb, M. E. (1983a). More on mother–infant bonding [Letter to the Editor]. *Journal of Pediatrics*, 102, 829.
- Lamb, M. E. (1983b). Reply to Sugarman and Goldberg [Letter to the Editor]. *Journal of Pediatrics*, 102, 830.

- Lamb, M. E., & Tamis-LeMonda, C. S. (2004). The role of the father: An introduction. In M. E. Lamb (Ed.), *The role of the father in child development* (4th ed., pp. 1–31). Hoboken, NJ: Wiley.
- Lane, N., Dean, W., Erhardt, S., Hajkova, P., Surani, A., Walter, J., & Reik, W. (2003). Resistance of IAPs to methylation reprogramming may provide a mechanism for epigenetic inheritance in the mouse. *genesis*, 35(2), 88-93.
- Laxton-Kane, M., Slade, P. (2002). The role of maternal prenatal attachment in a woman's experience of pregnancy and implications for the process of care. In *Journal of Reproductive and Infant Psychology*, 20(4), pp. 253- 267.
- Le, H.N., Ramos, M.A., & Muñoz, R.F. (2007). The relationship between alexithymia and perinatal depressive symptomatology. *Journal of Psychosomatic Research*, 62, 215–222.
- Leckman, J. F., Feldman, R., Swain, J. E., Eicher, V., Thompson, N., & Mayes, L. C. (2004). Primary parental preoccupation: Circuits, genes, and the crucial role of the environment. *Journal of Neural Transmission*, 111, 753–771.
- Leckman, J. F., Mayes, L. C., Feldman, R., Evans, D. W., King, R. A., & Cohen, D. J. (1999). Early parental preoccupations and behaviors and their possible relationship to the symptoms of obsessive-compulsive disorder. *Acta Psychiatrica Scandinavica, Supplementum*, 396, 1–26.
- Lee, R. J., Gollan, J., Kasckow, J., Geraciotti, T., & Coccaro, E. F. (2006). CSF corticotropin-releasing factor in personality disorder: relationship with self-reported parental care. *Neuropsychopharmacology*, 31(10), 2289.
- Lehmann, J., Pryce, C. R., Bettschen, D., & Feldon, J. (1999). The maternal separation paradigm and adult emotionality and cognition in male and female Wistar rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 64(4), 705-715.
- Leifer, M. (1977). Psychological changes accompanying pregnancy and motherhood. In *Genetics Psychology and Monographs*, 95, pp. 55-96.
- Leve, L. D., Neiderhiser, J. M., Scaramella, L. V., & Reiss, D. (2010). The Early Growth and Development Study: Using the prospective adoption design to examine genotype–environment interplay. *Behavior Genetics*, 40(3), 306-314.
- Levine, A., Zagoory-Sharon, O., Feldman, R., & Weller, A. (2007). Oxytocin during pregnancy and early postpartum: individual patterns and maternal–fetal attachment. *Peptides*, 28, 1162–1169.

- Lewis, M. (1998). Altering fate: Why the past does not predict the future. *Psychological Inquiry*, 9(2), 105-108.
- Lewkowicz D. (2000). The development of intersensory temporal perception: An epigenetic systems/limitations view. *Psychological Bulletin*. 126(2):281–308.
- Lindgren, K. (2003). A comparison of pregnancy health practices of women in inner-city and small urban communities. *J. Obstet. Gynecol. Neonatal Nurs.* 32, 313-321.
- Liu, C., Cnattingius, S., Bergström, M., Östberg, V., & Hjern, A. (2016). Prenatal parental depression and preterm birth: a national cohort study. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology*, 123(12), 1973-1982.
- Liu, D., Diorio, J., Day, J. C., Francis, D. D., & Meaney, M. J. (2000). Maternal care, hippocampal synaptogenesis and cognitive development in rats. *Nature Neuroscience*, 3, 799–806.
- Liu, D., Diorio, J., Tannenbaum, B., Caldji, C., Francis, D., Freedman, A., ... & Meaney, M. J. (1997). Maternal care, hippocampal glucocorticoid receptors, and hypothalamic-pituitary-adrenal responses to stress. *Science*, 277(5332), 1659-1662.
- Liu, Y., Murphy, S. K., Murtha, A. P., Fuemmeler, B. F., Schildkraut, J., Huang, Z., ... & Forman, M. R. (2012). Depression in pregnancy, infant birth weight and DNA methylation of imprint regulatory elements. *Epigenetics*, 7(7), 735-746.
- Lorenz, K. (1957). Companionship in bird life. *Instinctive behavior: the development of a modern concept* (ed. CH Schiller), 83-128.
- Lovic, V., & Fleming, A. S. (2004). Artificially-reared female rats show reduced prepulse inhibition and deficits in the attentional set shifting task—reversal of effects with maternal-like licking stimulation. *Behavioural brain research*, 148(1-2), 209-219.
- Lovic, V., Gonzalez, A., & Fleming, A. S. (2001). Maternally separated rats show deficits in maternal care in adulthood. *Developmental Psychobiology: The Journal of the International Society for Developmental Psychobiology*, 39(1), 19-33.
- Lukas, M., Bredewold, R., Neumann, I. D., & Veenema, A. H. (2010). Maternal separation interferes with developmental changes in brain vasopressin and oxytocin receptor binding in male rats. *Neuropharmacology*, 58(1), 78-87.
- Lumley, J. (1972). The development of maternal-foetal bonding in first pregnancy". *Third International Congress, Psychosomatic Medicine in Obstetrics and Gynaecology*. Basle: Karger.
- Lumley, J.M. (1982). Attitudes to the foetus among the primigravidae. *Australian Pediatric Journal*, 18: 106-109.

- Lwanga, H., Atuyambe, L., Sempewo, H., Lumala, A., & Byaruhanga, R. N. B. (2017). An exploratory study of men's companionship, perceptions and experiences during pregnancy and delivery in Uganda. *BMC pregnancy and childbirth*, 17(1), 196.
- MacLean, K. (2003). The impact of institutionalization on child development. *Dev Psychopathol* 15:853–884.
- Maestripieri, D. (2001a). Biological bases of maternal attachment. *Current Directions in Psychological Science*, 10, 79–83.
- Maestripieri, D. (2001b). Is there mother–infant bonding in primates? *Developmental Review*, 21, 93–120.
- Main, M., Kaplan, N., & Cassidy, J. (1985). Security in infancy, childhood, and adulthood: A move to the level of representation. *Monographs of the society for research in child development*.
- Malaspina, D. (2001). Paternal factors and schizophrenia risk: de novo mutations and imprinting. *Schizophrenia bulletin*, 27(3), 379-393.
- Malaspina, D., Sohler, NL., Susser, ES. (1999). Interaction of genes and prenatal exposures in schizophrenia. In: Susser, ES., Brown, AS., Gorman, JM., editors. *Prenatal Exposures in Schizophrenia*. Washington, DC: Am. Psychiatr. Press, pp. 35-59.
- Marsiglio, W., Amato, P., Day, R. D., & Lamb, M. E. (2000). Scholarship on fatherhood in the 1990s and beyond. *Journal of marriage and family*, 62(4), 1173-1191.
- Martin, N., Boomsma, D., & Machin, G. (1997). A twin-pronged attack on complex traits. *Nature genetics*, 17(4), 387.
- Martone, D. J., & Nash, B. R. (1988). Initial differences in postpartum attachment behavior in breastfeeding and bottle-feeding mothers. *Journal of Obstetric, Gynecologic, and Neonatal Nursing*, 17, 212–213.
- Marty, P. & d'Uzan, M. (1962). La pense'e ope'ratoire. Intervention sur le rapport de M. Fain et Ch. David: Aspects fonctionnels de la vie onirique. XXIIIe Congre's des psychanalystes de langues romanes, Barcelone, 1962. *Revue Franc,aise de Psychanalyse*, 27, 345–356.
- Mazzeschi, C., Pazzagli, C., Radi, G., Raspa, V., & Buratta, L. (2015). Antecedents of maternal parenting stress: the role of attachment style, prenatal attachment, and dyadic adjustment in first-time mothers. *Frontiers in psychology*, 6, 1443.
- Mazzeschi, C., Pazzagli, C., Radi, G., Raspa, V., Buratta, L. (2015). Antecedents of maternal parenting stress: the role of attachment style, prenatal attachment, and dyadic adjustment in first-time mothers. *Front. Psychol.* 6, 1443.

- McCormack, K., Sanchez, M. M., Bardi, M., & Maestripieri, D. (2006). Maternal care patterns and behavioral development of rhesus macaque abused infants in the first 6 months of life. *Developmental Psychobiology: The Journal of the International Society for Developmental Psychobiology*, 48(7), 537-550.
- McGowan, P. O., Suderman, M., Sasaki, A., Huang, T. C., Hallett, M., Meaney, M. J., & Szyf, M. (2011). Broad epigenetic signature of maternal care in the brain of adult rats. *PloS one*, 6(2), e14739.
- McGue, M., & Bouchard Jr, T. J. (1998). Genetic and environmental influences on human behavioral differences. *Annual review of neuroscience*, 21(1), 1-24.
- McGue, M., Sharma, A., & Benson, P. (1996). Parent and sibling influences on adolescent alcohol use and misuse: evidence from a US adoption cohort. *Journal of studies on alcohol*, 57(1), 8-18.
- McGue, M., Sharma, A., & Benson, P. (1996). The effect of common rearing on adolescent adjustment: evidence from a US adoption cohort. *Developmental Psychology*, 32(4), 604.
- McLeod, J., Sinal, C. J., & Perrot-Sinal, T. S. (2007). Evidence for non-genomic transmission of ecological information via maternal behavior in female rats. *Genes, Brain and Behavior*, 6(1), 19-29.
- Meaney, M. J. (2001). Maternal care, gene expression, and the transmission of individual differences in stress reactivity across generations. *Annual review of neuroscience*, 24(1), 1161-1192.
- Meaney, M. J. (2007). Social influences on sexual differentiation in mammals. *Adv. Genet*, 59, 173-215.
- Meaney, M. J. (2010). Epigenetics and the biological definition of Gene Environment interactions. *Child Development*, 81, 41-79.
- Meaney, M. J., & Szyf, M. (2005). Maternal care as a model for experience-dependent chromatin plasticity?. *Trends in neurosciences*, 28(9), 456-463.
- Meaney, M. J., Aitken, D. H., Bodnoff, S. R., Iny, L. J., Tatarewicz, J. E., & Sapolsky, R. M. (1985). Early postnatal handling alters glucocorticoid receptor concentrations in selected brain regions. *Behavioral neuroscience*, 99(4), 765.
- Meaney, M. J., Aitken, D. H., Viau, V., Sharma, S., & Sarrieau, A. (1989). Neonatal handling alters adrenocortical negative feedback sensitivity and hippocampal type II glucocorticoid receptor binding in the rat. *Neuroendocrinology*, 50(5), 597-604.

- Meaney, M. J., Szyf, M., & Seckl, J. R. (2007). Epigenetic mechanisms of perinatal programming of hypothalamic-pituitary-adrenal function and health. *Trends in molecular medicine*, 13(7), 269-277.
- Mehta, M. A., Golembo, N. I., Nosarti, C., Colvert, E., Mota, A., Williams, S. C., ... & Sonuga-Barke, E. J. (2009). Amygdala, hippocampal and corpus callosum size following severe early institutional deprivation: the English and Romanian Adoptees study pilot. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*, 50(8), 943-951.
- Meltzoff A. (2007). Like me: A foundation for social cognition. *Developmental Science*. 10(1):126–134.
- Meltzoff, A. (1985). The roots of social and cognitive development: Models of man's original nature. In: Field, T., Fox, N., editors. *Social Perception in Infants*. Norwood, NJ: Ablex. p. 1-30.
- Meltzoff, A. N. (1995). Understanding the intentions of the others: re-enactment of intended acts by 18-month-old children. *Developmental Psychology*, 31, 838-850.
- Meltzoff, A. N., & Moore, M. K. (1977). Imitation of facial and manual gestures by human neonates. *Science*, 198(4312), 75-78.
- Meltzoff, A., Moore, M. (1998). Infant intersubjectivity: Broadening the dialogue to include imitation, identity and intention. In: Braten, S., editor. *Intersubjective communication and emotion in early ontogeny*. Cambridge: Cambridge University Press. p. 47-62.
- Mercer, R.T., Ferketich, L.S., May, K., De Joseph, J., Sollid, D. (1988). Further exploration of maternal and paternal fetal attachment. *Research in Nursing and Health*, 11: 83-95.
- Mezzacappa, E. S. (2005). Breastfeeding and maternal mood. In A. V. Clark (Ed.), *Causes role and influence of mood states* (pp. 169–193). Hauppauge: Nove Biomedical Books.
- Mezzacappa, E. S., & Katkin, E. S. (2002). Breast-feeding is associated with reduced perceived stress and negative mood in mothers. *Health Psychology*, 21, 187–191.
- Miller, W. B., Feldman, S. S., & Pasta, D. J. (2002). The effect of the nurturant bonding system on child security of attachment and dependency. *Social Biology*, 49, 125–159.
- Mitchell, C., Schneper, L. M., & Notterman, D. A. (2016). DNA methylation, early life environment, and health outcomes. *Pediatric research*, 79(1-2), 212.
- Moe, V., Von Soest, T., Fredriksen, E., Olafsen, K. S., & Smith, L. (2018). The multiple determinants of maternal parenting stress 12 months after birth: the contribution of antenatal attachment style, adverse childhood experiences, and infant temperament. *Frontiers in psychology*, 9, 1987.

- Moldin, S. O., & Gottesman, I. I. (1997). Genes, experience, and chance in schizophrenia— Positioning for the 21st century. *Schizophrenia Bulletin*, 23(4), 547-561.
- Montebarocci, O., et al. (2004). Adult attachment style and alexithymia. *Personality and Individual Differences*, 36(3), 499–507.
- Montirosso, R., Provenzi, L., Tavian, D., Morandi, F., Bonanomi, A., Missaglia, S., ... & Borgatti, R. (2015). Social stress regulation in 4-month-old infants: contribution of maternal social engagement and infants'5-HTTLPR genotype. *Early Human Development*, 91(3), 173-179.
- Moore, C. L., & Power, K. L. (1986). Prenatal stress affects mother–infant interaction in Norway rats. *Developmental Psychobiology: The Journal of the International Society for Developmental Psychobiology*, 19(3), 235-245.
- Moore, S. R., & Depue, R. A. (2016). Neurobehavioral foundation of environmental reactivity. *Psychological Bulletin*, 142, 107–164.
- Moore, S. R., McEwen, L. M., Quirt, J., Morin, A., Mah, S. M., Barr, R. G., ... & Kobor, M. S. (2017). Epigenetic correlates of neonatal contact in humans. *Development and psychopathology*, 29(5), 1517-1538.
- Morgan, C. P., & Bale, T. L. (2011). Early prenatal stress epigenetically programs dysmasculinization in second-generation offspring via the paternal lineage. *Journal of Neuroscience*, 31(33), 11748-11755.
- Morgan, H. D., Sutherland, H. G., Martin, D. I., & Whitelaw, E. (1999). Epigenetic inheritance at the agouti locus in the mouse. *Nature genetics*, 23(3), 314.
- Muller, M. E., & Mercer, R. T. (1993). Development of the prenatal attachment inventory. *Western Journal of Nursing Research*, 15(2), 199-215.
- Müller, M.E. (1996). Prenatal and postnatal attachment: a modest correlation. *J. Obstet. Gynecol. Neonatal Nurs.* 25, 161-166.
- Murgatroyd, C., Patchev, A. V., Wu, Y., Micale, V., Bockmühl, Y., Fischer, D., ... & Spengler, D. (2009). Dynamic DNA methylation programs persistent adverse effects of early-life stress. *Nature neuroscience*, 12(12), 1559.
- Mychasiuk, R., Harker, A., Ilnytsky, S., & Gibb, R. (2013). Paternal stress prior to conception alters DNA methylation and behaviour of developing rat offspring. *Neuroscience*, 241, 100-105.
- Narita, K., Takei, Y., Suda, M., Aoyama, Y., Uehara, T., Kosaka, H., ... & Mikuni, M. (2010). Relationship of parental bonding styles with gray matter volume of dorsolateral

- prefrontal cortex in young adults. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 34(4), 624-631.
- Naumova, O. Y., Lee, M., Kuposov, R., Szyf, M., Dozier, M., & Grigorenko, E. L. (2012). Differential patterns of whole-genome DNA methylation in institutionalized children and children raised by their biological parents. *Development and Psychopathology*, 24, 143–155.
- Neigh, G. N., Gillespie, C. F., & Nemeroff, C. B. (2009). The neurobiological toll of child abuse and neglect. *Trauma, Violence, & Abuse*, 10(4), 389-410.
- Nemoda, Z., Massart, R., Suderman, M., Hallett, M., Li, T., Coote, M., ... & Steiner, M. (2015). Maternal depression is associated with DNA methylation changes in cord blood T lymphocytes and adult hippocampi. *Translational psychiatry*, 5(4), e545.
- Neville, M. C., McFadden, T. B., & Forsyth, I. (2002). Hormonal regulation of mammary differentiation and milk secretion. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, 7, 49–66.
- Nieto, L., Lara, M. A., & Navarrete, L. (2017). Prenatal predictors of maternal attachment and their association with postpartum depressive symptoms in Mexican women at risk of depression. *Maternal and child health journal*, 21(6), 1250-1259.
- Nieto, S. J., & Kosten, T. A. (2019). Who's your daddy? Behavioral and epigenetic consequences of paternal drug exposure. *International Journal of Developmental Neuroscience*.
- Nievar, M. A., & Becker, B. J. (2008). Sensitivity and attachment: A second perspective of De Wolff and van IJzendoorns metaanalysis. *Social Development*, 17, 102–114.
- Nishitani, S., Parets, S. E., Haas, B. W., & Smith, A. K. (2018). DNA methylation analysis from saliva samples for epidemiological studies. *Epigenetics*, 13(4), 352-362.
- Nissen, E., Gustavsson, P., Widstrom, A. M., & Uvnas-Moberg, K. (1998). Oxytocin, prolactin, milk production and their relationship with personality traits in women after vaginal delivery or Cesarean section. *Journal of Psychosomatic Obstetrics and Gynaecology*, 19, 49–58.
- Nissen, E., Uvnas-Moberg, K., Svensson, K., Stock, S., Widstrom, A.-M., & Winberg, J. (1996). Different patterns of oxytocin, prolactin but not cortisol release during breastfeeding in women delivered by Caesarean section or by the vaginal route. *Early Human Development*, 45, 103–118.

- Non, A. L., Binder, A. M., Kubzansky, L. D., & Michels, K. B. (2014). Genome-wide DNA methylation in neonates exposed to maternal depression, anxiety, or SSRI medication during pregnancy. *Epigenetics*, 9(7), 964-972.
- Nummenmaa, L., Manninen, S., Tuominen, L., Hirvonen, J., Kalliokoski, K. K., Nuutila, P., ... & Sams, M. (2015). Adult attachment style is associated with cerebral μ -opioid receptor availability in humans. *Human brain mapping*, 36(9), 3621-3628.
- O'Brien, G. (Ed.). (2002). *Behavioural phenotypes in clinical practice* (No. 157). Cambridge University Press.
- O'Connor, T.G., Rutter M (2000) Attachment disorder behavior following early severe deprivation: extension and longitudinal follow-up. English and Romanian Adoptees Study Team. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 39:703–712.
- O'Connor, T.G., Rutter, M., Beckett, C., Keaveney, L., Kreppner, J.M. (2000). The effects of global severe privation on cognitive competence: extension and longitudinal follow-up. English and Romanian adoptees study team. *Child Dev* 71:376–390.
- O'donnell, K., O'connor, T. G., & Glover, V. (2009). Prenatal stress and neurodevelopment of the child: focus on the HPA axis and role of the placenta. *Developmental neuroscience*, 31(4), 285-292.
- Oberlander, T. F., Weinberg, J., Papsdorf, M., Grunau, R., Misri, S., & Devlin, A. M. (2008). Prenatal exposure to maternal depression, neonatal methylation of human glucocorticoid receptor gene (NR3C1) and infant cortisol stress responses. *Epigenetics*, 3(2), 97-106.
- Ognibene, E., Adriani, W., Caprioli, A., Ghirardi, O., Ali, S. F., Aloe, L., & Laviola, G. (2008). The effect of early maternal separation on brain derived neurotrophic factor and monoamine levels in adult heterozygous reeler mice. *Progress in neuro-psychopharmacology and biological psychiatry*, 32(5), 1269-1276.
- Ovtscharoff Jr, W., Helmeke, C., & Braun, K. (2006). Lack of paternal care affects synaptic development in the anterior cingulate cortex. *Brain research*, 1116(1), 58-63.
- Panksepp, J., Nelson, E., & Siviy, S. (1994). Brain opioids and mother–infant social motivation. *Acta Paediatrica*, 397, 40–46.
- Papageorgiou, K. A., & Ronald, A. (2013). “He who sees things grow from the beginning will have the finest view of them” a systematic review of genetic studies on psychological traits in infancy. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 37(8), 1500-1517.

- Parker, G. (1993). Parental rearing style: examining for links with personality vulnerability factors for depression. *Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol* 28:97–100.
- Parker, G., Tupling, H., Brown, L.B. (1979). A parental bonding instrument. *Br J Med Psychol* 52:1–10
- Paulson, J. F., Bazemore, S. D., Goodman, J. H., & Leiferman, J. A. (2016). The course and interrelationship of maternal and paternal perinatal depression. *Archives of women's mental health*, 19(4), 655-663.
- Paulson, J.F., Dauber, S., & Leiferman, J.A. (2006). Individual and combined effects of postpartum depression in mothers and fathers on parenting behaviour. *Paediatrics*, 118, 659–668.
- Pedersen, C. A. (1997). Oxytocin control of maternal caretaking behavior. Regulation by sex steroids and offspring stimuli. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 807, 126–145.
- Pedersen, C. A., Caldwell, J. D., Walker, C., Ayers, G., & Mason, G. A. (1994). Oxytocin activates the postpartum onset of rat maternal caretaking behavior in the ventral tegmental and medial preoptic areas. *Behavioral Neuroscience*, 108, 1163–1171.
- Pedersen, C. A., Caldwell, J. D., Walker, C., Ayers, G., & Mason, G. A. (1994). Oxytocin activates the postpartum onset of rat maternal caretaking behavior in the ventral tegmental and medial preoptic areas. *Behavioral Neuroscience*, 108, 1163–1171.
- Peña, C. J., Neugut, Y. D., Calarco, C. A., & Champagne, F. A. (2014). Effects of maternal care on the development of midbrain dopamine pathways and reward-directed behavior in female offspring. *Eur J Neurosci*, 39, 946-956.
- Pérez, F., Brahm, P., Riquelme, S., Rivera, C., Jaramillo, K., & Eickhorst, A. (2017). Paternal post-partum depression: How has it been assessed? A literature review. *Mental Health & Prevention*, 7, 28-36.
- Perry, S.E. (1983). Parents' perceptions of their new-born following structured interactions. *Nursing Research*, 32: 285-289.
- Phares, V., & Compas, B. E. (1992). The role of fathers in child and adolescent psychopathology: make room for daddy. *Psychological bulletin*, 111(3), 387.
- Phillips, C. (2017). Brain-derived neurotrophic factor, depression, and physical activity: making the neuroplastic connection. *Neural plasticity*, 2017.

- Piaget, J. (1923). *Le langage et la pensée chez l'enfant*. Neuchâtel-Paris: Delachaux et Niestlé. Trad. it.: *Il linguaggio e il pensiero nel fanciullo*. Giunti-Barbèra, Firenze, 1962.a
- Piaget, J. (1936). *La naissance de l'intelligence chez l'enfant*. Trad. it.: *La nascita dell'intelligenza nel fanciullo*. Giunti-Barbèra, Firenze, 1968.
- Pickering, C., Gustafsson, L., Cebere, A., Nylander, I., & Liljequist, S. (2006). Repeated maternal separation of male Wistar rats alters glutamate receptor expression in the hippocampus but not the prefrontal cortex. *Brain research*, 1099(1), 101-108.
- Pines, D. (1972). Pregnancy and motherhood: interaction between fantasy and reality. *British Journal of Medical Psychology*, 45: 333-343.
- Pines, D. (1980). Skin Communication: Early Skin Disorders and their Effect on transference and counter-transference. *International Journal of Psychoanalysis*. 61: 315-323.
- Pinkernelle, J., Abraham, A., Seidel, K., & Braun, K. (2009). Paternal deprivation induces dendritic and synaptic changes and hemispheric asymmetry of pyramidal neurons in the somatosensory cortex. *Developmental neurobiology*, 69(10), 663-673.
- Piontelli, A. (1992). *From fetus to child*. The New Library of Psychoanalysis. London.
- Plomin, R., & Rutter, M. (1998). Child development, molecular genetics, and what to do with genes once they are found. *Child development*, 69(4), 1223-1242.
- Plomin, R., DeFries, J. C., & Loehlin, J. C. (1977). Genotype-environment interaction and correlation in the analysis of human behavior. *Psychological bulletin*, 84(2), 309.
- Plotsky, P. M., & Meaney, M. J. (1993). Early, postnatal experience alters hypothalamic corticotropin-releasing factor (CRF) mRNA, median eminence CRF content and stress-induced release in adult rats. *Molecular brain research*, 18(3), 195-200.
- Pluess, M., Velders, F. P., Belsky, J., Van IJzendoorn, M. H., Bakermans-Kranenburg, M. J., Jaddoe, V. W., ... & Tiemeier, H. (2011). Serotonin transporter polymorphism moderates effects of prenatal maternal anxiety on infant negative emotionality. *Biological psychiatry*, 69(6), 520-525.
- Pollock, P.H., Percy, A. (1999). Maternal antenatal attachment style and potential fetal abuse. *Child Abuse Negl.* 23, 1345-1357.
- Pruessner, J. C., Champagne, F., Meaney, M. J., & Dagher, A. (2004). Dopamine release in response to a psychological stress in humans and its relationship to early life maternal

- care: a positron emission tomography study using [11C] raclopride. *Journal of Neuroscience*, 24(11), 2825-2831.
- Punamäki, R. L., Isosävi, S., Qouta, S. R., Kuittinen, S., & Diab, S. Y. (2017). War trauma and maternal–fetal attachment predicting maternal mental health, infant development, and dyadic interaction in Palestinian families. *Attachm Hum Dev*, 1-24.
- Quinlivan, J.A, Evans, S.F. (2005). Impact of domestic violence and drug abuse in pregnancy on maternal attachment and infant temperament in teenage mothers in the setting of the best clinical practice. *Archives of Womens Mental Health*, 8: 191-199.
- Ramchandani, P. G., O'Connor, T. G., Evans, J., Heron, J., Murray, L., & Stein, A. (2008). The effects of pre-and postnatal depression in fathers: a natural experiment comparing the effects of exposure to depression on offspring. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*, 49(10), 1069-1078.
- Ramchandani, P. G., Psychogiou, L., Vlachos, H., Iles, J., Sethna, V., Netsi, E., & Lodder, A. (2011). Paternal depression: An examination of its links with father, child and family functioning in the postnatal period. *Depression and Anxiety*, 28, 471–477.
- Ramchandani, P. G., Stein, A., Evans, J., & O'Connor, T. G. (2005). Paternal depression in the postnatal period and child development: A prospective population study. *Lancet*, 365, 2201–2205.
- Ramchandani, P., & Psychogiou, L. (2009). Paternal psychiatric disorders and children's psychosocial development. *The Lancet*, 374(9690), 646-653.
- Rao, H., Betancourt, L., Giannetta, J. M., Brodsky, N. L., Korczykowski, M., Avants, B. B., ... & Farah, M. J. (2010). Early parental care is important for hippocampal maturation: evidence from brain morphology in humans. *Neuroimage*, 49(1), 1144-1150.
- Raphael-Leff, J. (1983). Facilitators and regulators: two approaches to mothering. *British Journal of Medical Psychology*, 56: 379-390.
- Raphael-Leff, J. (1985). Facilitators and regulators, participators and renounces: mothers' and fathers' orientations towards pregnancy and parenthood. *Journal of Psychosomatic Obstetrics and Gynaecology*, 4:169-184.
- Raphael-Leff, J. (1991). *Psychological processes of childbearing*. Chapman e Hall, London.
- Razin, A., & Riggs, A. D. (1980). DNA methylation and gene function. *Science*, 210(4470), 604-610.
- Repetti, R. L., Taylor, S. E., & Seeman, T. E. (2002). Risky families: family social environments and the mental and physical health of offspring. *Psychological bulletin*, 128(2), 330.

- Roceri, M., Hendriks, W. J. A. J., Racagni, G., Ellenbroek, B. A., & Riva, M. A. (2002). Early maternal deprivation reduces the expression of BDNF and NMDA receptor subunits in rat hippocampus. *Molecular psychiatry*, 7(6), 609.
- Romens, S. E., McDonald, J., Svaren, J., & Pollak, S. D. (2015). Associations between early life stress and gene methylation in children. *Child Development*, 86, 303–309.
- Ronald, A. (2011). Is the child ‘father of the Man’? Evaluating the stability of genetic influences across development. *Developmental Science*, 14(6), 1471-1478.
- Rose, R. J., Dick, D. M., Viken, R. J., & Kaprio, J. (2001). Gene-environment interaction in patterns of adolescent drinking: regional residency moderates longitudinal influences on alcohol use. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 25(5), 637-643.
- Roth, T. L., Lubin, F. D., Funk, A. J., & Sweatt, J. D. (2009). Lasting epigenetic influence of early-life adversity on the BDNF gene. *Biological psychiatry*, 65(9), 760-769.
- Rotondo, J. C., Selvatici, R., Di Domenico, M., Marci, R., Vesce, F., Tognon, M., & Martini, F. (2013). Methylation loss at H19 imprinted gene correlates with methylenetetrahydrofolate reductase gene promoter hypermethylation in semen samples from infertile males. *Epigenetics*, 8(9), 990-997.
- Rowe, D. C. (1994). *The limits of family influence: Genes, experience, and behavior*. Guilford Press.
- Roy, A. (2002). Self-rated childhood emotional neglect and CSF monoamine indices in abstinent cocaine-abusing adults: possible implications for suicidal behavior. *Psychiatry research*, 112(1), 69-75.
- Rutter, M., O’Connor, T.G. (2004). Are there biological programming effects for psychological development? Findings from a study of Romanian adoptees. *Dev Psychol* 40:81–94.
- Sameroff, A. (1983). Developmental systems: Contexts and evolution. In: Kessen, W., editor. *Mussen’s handbook of child psychology*. Vol. 1. NY: Wiley. p. 237-294.
- Sameroff, A. (2010). A unified theory of development: A dialectic integration of nature and nurture. *Child Dev*, 81, 6-22.
- Scarr, S., & McCartney, K. (1983). How people make their own environments: A theory of genotype→ environment effects. *Child development*, 424-435.
- Schore, A. N. (2000). Attachment and the regulation of the right brain. *Attachment and Human Development*, 2, 23–47.

- Schore, A. N. (2001a). Effects of a secure attachment relationship on right brain development affect regulation, and infant mental health. *Infant Mental Health Journal*, 22, 7–66.
- Schore, A. N. (2001b). The effects of early relational trauma on right brain development, affect regulation and infant, mental health. *Infant mental Health Journal*, 22, 201–269.
- Seay, B., & Harlow, H. F. (1965). Maternal separation in the rhesus monkey. *Journal of Nervous and Mental Disease*.
- Seckl, J. R., & Holmes, M. C. (2007). Mechanisms of disease: glucocorticoids, their placental metabolism and fetal'programming'of adult pathophysiology. *Nature Reviews Endocrinology*, 3(6), 479.
- Seimyr, L., Sjögren, B., Welles-Nyström, B., & Nissen, E. (2009). Antenatal maternal depressive mood and parental–fetal attachment at the end of pregnancy. *Archives of women's mental health*, 12(5), 269.
- Sereda, Y., & Dembitskyi, S. (2016). Validity assessment of the symptom checklist SCL-90-R and shortened versions for the general population in Ukraine. *BMC psychiatry*, 16(1), 300.
- Shanahan, M. J., & Hofer, S. M. (2005). Social context in gene–environment interactions: Retrospect and prospect. *The Journals of Gerontology Series B: Psychological Sciences and Social Sciences*, 60(Special_Issue_1), 65-76.
- Sherman, S. L., DeFries, J. C., Gottesman, I. I., Loehlin, J. C., Meyer, J. M., Pelias, M. Z., ... & Waldman, I. (1997). Recent developments in human behavioral genetics: past accomplishments and future directions. *The American Journal of Human Genetics*, 60(6), 1265-1275.
- Siddiqui, A., Hägglöf, B. (2000). Does maternal prenatal attachment predict postnatal mother–infant interaction? *Early Hum. Dev.* 59, 13-25.
- Siddiqui, A., Hagglof, B., & Eisemann, M. (1999). An exploration of prenatal attachment in Swedish expectant women. *Journal of reproductive and infant psychology*, 17(4), 369-380.
- Siddiqui, A., Hagglof, B., Eisemann, M. (2000). Own memories of upbringing as a determinant of prenatal attachment in expectant women. *Journal of Reproductive and Infant Psychology*, 18: 67-74.
- Siegel, D. J. (2001). Toward an interpersonal neurobiology of the developing mind: attachment relationships, “mindsight”, and neural integration. *Infant Mental Health Journal*, 22, 67–95.

- Sifneos, P. (1973). The prevalence of Alexithymic characteristics in psychosomatic patients. *Psychotherapy psychosomatics*, 22, 255–262.
- Sluckin, W. (1965). *Imprinting and early learning*. Routledge 2017.
- Spinelli, S., Chefer, S., Carson, R. E., Jagoda, E., Lang, L., Heilig, M., ... & Stein, E. A. (2010). Effects of early-life stress on serotonin_{1A} receptors in juvenile rhesus monkeys measured by positron emission tomography. *Biological psychiatry*, 67(12), 1146-1153.
- Spinelli, S., Chefer, S., Suomi, S. J., Higley, J. D., Barr, C. S., & Stein, E. (2009). Early-life stress induces long-term morphologic changes in primate brain. *Archives of general psychiatry*, 66(6), 658-665.
- Spitz, R. A. (1959). *A Genetic Field Theory of Ego Formation* New York: International University Press.
- Spitz, R. A. (1965). *The first year of life: A psychoanalytic study of normal and deviant development of object relations*. New York: International University Press.
- Sroufe, L. A. (1990). An organizational perspective on the self. *The self in transition: Infancy to childhood*, 281-307.
- Sroufe, L. A. (1997). *Emotional development: The organization of emotional life in the early years*. Cambridge University Press.
- Sroufe, L.A. (2005). Attachment and development: a prospective, longitudinal study from birth to adulthood. *Attach Hum Dev* 7:349–367.
- Sroufe, L.A., Carlson, E. A., Levy, A. K., Egeland, B. (1999). Implications of attachment theory for developmental psychopathology. *Dev Psychopathol* 11:1–13.
- Stern, D. (1985). *The interpersonal world of the infant*. New York: Basic Books.
- Stern, D. N. (1995). *La costellazione materna: “il” trattamento psicoterapeutico della coppia madre-bambino*. Bollati Boringhieri Editore.
- Stern, D.N. (1974). L’uso dello sguardo, della voce, e delle espressioni facciali nell’interazione diadica tra madre e bambino che giocano. In: Stern, D.N. (a cura di). *Le interazioni madre-bambino nello sviluppo e nella clinica*. Raffaello Cortina, Milano, 1998.
- Stern, D.N. (1977). *Le prime relazioni sociali: il bambino e la madre*. Armando, Roma, 1982.
- Stern, D.N. (1988). *The interpersonal world of the infant*. Basic Books, New York. Trad. it.: *Il mondo interpersonale del bambino*. Bollati Boringhieri, Torino, 1987.

- Suderman, M., Borghol, N., Pappas, J. J., Pinto Pereira, S. M., Pembrey, M., Hertzman, C., . . . Szyf, M. (2014). Childhood abuse is associated with methylation of multiple loci in adult DNA. *BMC Medical Genomics*, 7, 13.
- Sugarman, M., & Goldberg, S. (1983). Reply to Lamb [Letter to the Editor]. *Journal of Pediatrics*, 102, 829–830.
- Suomi, S. J. (1991). Early stress and adult emotional reactivity in rhesus monkeys. *The childhood environment and adult disease*, 156, 171-183.
- Suomi, S. J. (1991). Early stress and adult emotional reactivity in rhesus monkeys. *The childhood environment and adult disease*, 156, 171-183.
- Suomi, S. J., Harlow, H. F., & Kimball, S. D. (1971). Behavioral effects of prolonged partial social isolation in the rhesus monkey. *Psychological reports*, 29(3_suppl), 1171-1177.
- Swain, J. E., Leckman, J. F., Mayes, L. C., Feldman, R., Constable, R. T., & Schultz, R. T. (2004). Neural substrates and psychology of human parent–infant attachment in the postpartum. *Biological Psychiatry*, 55, 153S.
- Tarabulsky G, Tessier R, Kappas A. Contingency detection and the contingent organization of behavior interactions: Implications for socioemotional development in infancy. *Psychological Bulletin*. 1996; 120:25–41.
- Taylor, S. E. (2006). Tend and befriend: Biobehavioral bases of affiliation under stress. *Current Directions in Psychological Science*, 15, 273–277.
- Thun-Hohenstein, L., Wienerroither, C., Schreuer, M., Seim, G., Wienerroither, H. (2008). Antenatal mental representations about the child and mother–infant interaction at three months post-partum. *Eur. Child Adolesc. Psychiatry* 17, 9-19.
- Torrone, D. Z., Kuriakose, J. S., Moors, K., Jiang, H., Niedzwiecki, M. M., Perera, F. F., & Miller, R. L. (2012). Reproducibility and intraindividual variation over days in buccal cell DNA methylation of two asthma genes, interferon γ (IFN γ) and inducible nitric oxide synthase (iNOS). *Clinical epigenetics*, 4(1), 3.
- Trevarthen, C. (1977). Descriptive analyses of infant communicative. In: Schaffer, H., editor. *Studies in mother-infant interaction*. London: Academic Press. p. 227-270.
- Trickett, P., McBride-Chang, C. (1995). The developmental impact of different forms of child abuse and neglect. *Dev Rev* 15:11–37.
- Trillingsgaard T., Elklit A., Shevlin M., Maimburg R. D. (2011). Adult attachment at the transition to motherhood: predicting worry, health care utility and relationship functioning. *J. Reproduct. Infant Psychol.* 29 354–363.

- Tronick E. Emotions and emotional communication in infants. *American Psychologist*. 1989; 44:112–119. vol. 4. Boringhieri, Torino, 1970.
- Tronick, E., Als, H., & Adamson, L. (1979). Structure of early face-to-face communicative interactions. In M. Bullock (Ed.), *Before speech: The beginning of interpersonal communication* (pp. 349–370). Cambridge, England: Cambridge University Press.
- Turner, B. (2001). Chromatin structure and the regulation of gene expression.
- Turner, J. D., & Muller, C. P. (2005). Structure of the glucocorticoid receptor (NR3C1) gene 5' untranslated region: identification, and tissue distribution of multiple new human exon 1. *Journal of molecular endocrinology*, 35(2), 283-292.
- Ueda, T., Yokoyama, Y., Irahara, M., & Aono, T. (1994). Influence of psychological stress on suckling-induced pulsatile oxytocin release. *Obstetrics and Gynecology*, 84, 259–262.
- Uvnäs-Moberg, K. (1996). Neuroendocrinology of the mother–child interaction. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 7, 126–131.
- Uvnäs-Moberg, K. (1997). Physiological and endocrine effects of social contact. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 807, 146–163.
- Uvnäs-Moberg, K. (1998). Oxytocin may mediate the benefits of positive social interaction and emotions. *Psychoneuroendocrinology*, 23, 819–835.
- Uvnäs-Moberg, K., Widström, A. M., Werner, S., Matthiesen, A. S., & Winberg, J. (1990). Oxytocin and prolactin levels in breastfeeding women. Correlation with milk yield and duration of breast-feeding. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica*, 69, 301–306.
- Valderrama, J., & Miranda, R. (2017). Early life stress predicts negative urgency through brooding, depending on 5-HTTLPR genotype: A pilot study with 6-month follow-up examining suicide ideation. *Psychiatry research*, 258, 481-487.
- Valla, L., Wentzel-Larsen, T., Smith, L., Birkeland, M. S., & Slinning, K. (2016). Association between maternal postnatal depressive symptoms and infants' communication skills: a longitudinal study. *Infant Behav Dev*, 45, 83-90.
- Van Batenburg-Eddes, T., Brion, M. J., Henrichs, J., Jaddoe, V. W. V., Hofman, A., Verhulst, F. C., ... & Tiemeier, H. (2013). Parental depressive and anxiety symptoms during pregnancy and attention problems in children: a cross-cohort consistency study. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*, 54(5), 591-600.
- van Bussel, J.C., Spitz, B., Demyttenaere, K. (2010). Reliability and validity of the Dutch version of the maternal antenatal attachment scale. [Erratum appears in Arch.

- Womens Ment. Health. 2010 Jun;13(3):293-4]. Arch. Womens Ment. Health 13, 267-277.
- Van den Bergh, B. R., van den Heuvel, M. I., Lahti, M., Braeken, M., de Rooij, S. R., Entringer, S., ... & Schwab, M. (2017). Prenatal developmental origins of behavior and mental health: The influence of maternal stress in pregnancy. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*.
- Van den Boom, D. C. (1994). The influence of temperament and mothering on attachment and exploration: An experimental manipulation of sensitive responsiveness among lower-class mothers with irritable infants. *Child Development*, 65(5), 1457–1477.
- Van Leengoed, E., Kerker, E., & Swanson, H. H. (1987). Inhibition of post-partum maternal behaviour in the rat by injecting an oxytocin antagonist into the cerebral ventricles. *Journal of Endocrinology*, 112, 275–282.
- Vangeel, E. B., Pishva, E., Hompes, T., van den Hove, D., Lambrechts, D., Allegaert, K., ... & Claes, S. (2017). Newborn genome-wide DNA methylation in association with pregnancy anxiety reveals a potential role for GABBR1. *Clinical epigenetics*, 9(1), 107.
- Vaughn, B.E., Bradley, C.F., Joffe, L.S., Braglow, P. (1987). Maternal characteristics measured prenatally are predictive of ratings of temperamental “difficulty” of the Carey Infant Temperament Questionnaire. *Developmental Psychology*, 32: 152-161.
- Verhagen M., van der Meij A., van Deurzen P. A., Janzing J. G., Arias-Vásquez A., Buitelaar J. K., & Franke B. (2010). Meta-analysis of the BDNF Val66Met polymorphism in major depressive disorder: Effects of gender and ethnicity. *Molecular Psychiatry*, 15, 260–271.
- Viau, V., Sharma, S., Plotsky, P. M., & Meaney, M. J. (1993). Increased plasma ACTH responses to stress in nonhandled compared with handled rats require basal levels of corticosterone and are associated with increased levels of ACTH secretagogues in the median eminence. *Journal of Neuroscience*, 13(3), 1097-1105.
- Wahlsten, D., Metten, P., Phillips, T. J., Boehm, S. L., Burkhart-Kasch, S., Dorow, J., ... & Hen, R. (2003). Different data from different labs: lessons from studies of gene–environment interaction. *Journal of neurobiology*, 54(1), 283-311.
- Wayland, J., Tate, S. (1993). “Maternal-fetal attachment and perceived relationships with important others in adolescents”. In *Birth: Issues in Perinatal Care*, 20, pp.198-203.
- Wearden, A., Cook, L., & Vaughen-Jones, J. (2003). Adult attachment, alexithymia, symptom reporting, and health-related coping. *Journal of Psychosomatic Research*, 55, 341–347.

- Weaver, I. C., Cervoni, N., Champagne, F. A., D'Alessio, A. C., Sharma, S., Seckl, J. R., ... & Meaney, M. J. (2004). Epigenetic programming by maternal behavior. *Nature neuroscience*, 7(8), 847.
- Weaver, I. C., D'Alessio, A. C., Brown, S. E., Hellstrom, I. C., Dymov, S., Sharma, S., ... & Meaney, M. J. (2007). The transcription factor nerve growth factor-inducible protein 1 mediates epigenetic programming: altering epigenetic marks by immediate-early genes. *Journal of Neuroscience*, 27(7), 1756-1768.
- Wikenius, E., Myhre, A. M., Page, C. M., Moe, V., Smith, L., Heiervang, E. R., ... & LeBlanc, M. (2019). Prenatal maternal depressive symptoms and infant DNA methylation: a longitudinal epigenome-wide study. *Nordic journal of psychiatry*, 73(4-5), 257-263.
- Wilson, K. R., & Prior, M. R. (2011). Father involvement and child well-being. *Journal of paediatrics and child health*, 47(7), 405-407.
- Wilson, M.E., White, M.A., Cobb, B., Curry, R., Greene, D., Popovich, D. (2000). Family dynamics, parental-fetal attachment and infant temperament. In *Journal of Advanced Nursing*, 31, pp. 204-210.
- Wilson, S., & Durbin, C. E. (2010). Effects of paternal depression on fathers' parenting behaviors: A meta-analytic review. *Clinical Psychology Review*, 30, 167–180.
- Winnicott, D. W. (1948). Pediatrics and psychiatry. *British Journal of Medical Psychology*, 21(4), 229-240.
- Winnicott, D. W. (1953). Transitional objects and transitional phenomena—a study of the first not-me possession. *International journal of psycho-analysis*, 34, 89-97.
- Winnicott, D. W. (1960). The theory of the parent-infant relationship. *International Journal of Psycho-Analysis*, 41, 585-595.
- Winnicott, D.W. (1958). *Dalla pediatria alla psicoanalisi*. Tr. It. Martinelli, Firenze 1975.
- Winnicott, D.W. (1965). The theory of the parent-infant relationship. In: Winnicott, D.W. (a cura di). *The maturational processes and the facilitating environment*. International Universities Press. New York. Trad. it.: *Sviluppo affettivo e ambiente*. Cortina, Milano, 1992.
- Winnicott, D.W. (1989). *Esplorazioni psicoanalitiche*. Raffaello Cortina, Milano, 1995.
- Winslow, J. T. (2005). Neuropeptides and non-human primate social deficits associated with pathogenic rearing experience. *International Journal of Developmental Neuroscience*, 23(2-3), 245-251.

- Wittmann, B. C., Tan, G. C., Lisman, J. E., Dolan, R. J., & Düzel, E. (2013). DAT genotype modulates striatal processing and long-term memory for items associated with reward and punishment. *Neuropsychologia*, 51(11), 2184-2193.
- Xavier, M. J., Roman, S. D., Aitken, R. J., & Nixon, B. (2019). Transgenerational inheritance: how impacts to the epigenetic and genetic information of parents affect offspring health. *Human reproduction update*.
- Yehuda, R., Daskalakis, N. P., Lehrner, A., Desarnaud, F., Bader, H. N., Makotkine, I., ... & Meaney, M. J. (2014). Influences of maternal and paternal PTSD on epigenetic regulation of the glucocorticoid receptor gene in Holocaust survivor offspring. *American Journal of Psychiatry*, 171(8), 872-880.
- Yu, P., An, S., Tai, F., Zhang, X., He, F., Wang, J., ... & Wu, R. (2012). The effects of neonatal paternal deprivation on pair bonding, NAcc dopamine receptor mRNA expression and serum corticosterone in mandarin voles. *Hormones and behavior*, 61(5), 669-677.
- Zeaneah, C.H., Barton, M.L. (1989). Introduction: internal representations and parent-infant relationships. *Infant Mental Health Journal*, 10: 135-141.
- Zeaneah, C.H., Keener, M.A., Anders, T.F. (1986). Adolescent mothers' prenatal fantasies and working models of their infants. *Psychiatry*, 49: 193-203.
- Zhang, M., Chen, X., Way, N., Yoshikawa, H., Deng, H., Ke, X., ... & Lu, Z. (2011). The association between infants' self-regulatory behavior and MAOA gene polymorphism. *Developmental science*, 14(5), 1059-1065.
- Zhang, T. Y., & Meaney, M. J. (2010). Epigenetics and the environmental regulation of the genome and its function. *Annual review of psychology*, 61, 439-466.
- Zhang, T. Y., Chrétien, P., Meaney, M. J., & Gratton, A. (2005). Influence of naturally occurring variations in maternal care on prepulse inhibition of acoustic startle and the medial prefrontal cortical dopamine response to stress in adult rats. *Journal of Neuroscience*, 25(6), 1493-1502.

Appendice

A.1. Prenatal Attachment Inventory (PAI)

(traduzione italiana Della Vedova et al.)

Le seguenti affermazioni descrivono pensieri, sentimenti e situazioni che le donne potrebbero provare durante la gravidanza. Siamo interessati alla vostra esperienza in quest'ultimo mese. Per cortesia, indicate con una crocetta il numero posto sotto la parola che meglio descrive la Sua esperienza.

1 = Quasi mai 3 = Spesso
2 = Qualche volta 4 = Quasi sempre

	<i>Quasi mai</i>	<i>Qualche volta</i>	<i>Spesso</i>	<i>Quasi sempre</i>
1 <i>Mi chiedo come sia adesso il bambino</i>	1	2	3	4
2 <i>Mi immagino di chiamare per nome il bambino</i>	1	2	3	4
3 <i>Mi piace sentire il bambino che si muove</i>	1	2	3	4
4 <i>Penso che il bambino abbia già una sua personalità</i>	1	2	3	4
5 <i>Lascio che altre persone mettano le mani sulla pancia per sentire il bambino che si muove</i>	1	2	3	4
6 <i>So che il bambino risente delle cose che faccio</i>	1	2	3	4
7 <i>Progetto le cose che farò con il bambino</i>	1	2	3	4
8 <i>Dico agli altri quello che il bambino fa dentro di me</i>	1	2	3	4
9 <i>Immagino quale parte del bambino sto toccando</i>	1	2	3	4
10 <i>So quando il bambino dorme</i>	1	2	3	4
11 <i>Posso far muovere il bambino</i>	1	2	3	4
12 <i>Compro/faccio cose per il bambino</i>	1	2	3	4
13 <i>Provo amore per il bambino</i>	1	2	3	4
14 <i>Provo a immaginare cosa il bambino stia facendo là dentro</i>	1	2	3	4
15 <i>Mi piace stare seduta con le braccia attorno alla pancia</i>	1	2	3	4
16 <i>Sogno il bambino</i>	1	2	3	4
17 <i>So perché il bambino si muove</i>	1	2	3	4
18 <i>Accarezzo il bambino attraverso la pancia</i>	1	2	3	4
19 <i>Condivido dei segreti con il bambino</i>	1	2	3	4
20 <i>So che il bambino mi sente</i>	1	2	3	4
21 <i>Sono molto emozionata quando penso al bambino</i>	1	2	3	4

A.2. Paternal Antenatal Attachment Scale (PAAS)

(traduzione italiana Della Vedova e Burro)

*=indicano item invertiti

Gentile Signore, le seguenti domande si riferiscono ai Suoi pensieri e sentimenti verso il bambino o la bambina che attende. La preghiamo di cerchiare l'affermazione che meglio descrive la Sua esperienza in questa fase della gravidanza.

1. <u>Nelle ultime due settimane</u> ho pensato al bambino che si sta sviluppando:*				
Quasi tutto il tempo	Molto frequentemente	Frequentemente	Occasionalmente	Per nulla
2. <u>Nelle ultime due settimane</u> quando ho parlato del bambino che si sta sviluppando o ho pensato a lui ho provato sentimenti che erano:				
Molto deboli o inesistenti	Abbastanza deboli	Intermedi tra forti e deboli	Abbastanza forti	Molto forti
3. <u>Nelle ultime due settimane</u> i miei sentimenti verso il bambino che si sta sviluppando sono stati:*				
Molto positivi	Principalmente positivi	Misti tra positivi e negativi	Principalmente negativi	Molto negativi
4. <u>Nelle ultime due settimane</u> ho avuto il desiderio di leggere o ottenere informazioni sul bambino che si sta sviluppando. Questo desiderio è:				
Molto debole o inesistente	Abbastanza debole	Né debole né forte	Abbastanza forte	Molto forte
5. <u>Nelle ultime due settimane</u> ho cercato di immaginare nella mia mente come realmente è il bambino che si sta sviluppando nel grembo della mia partner:*				
Quasi tutto il tempo	Molto frequentemente	Frequentemente	Occasionalmente	Per nulla
6. <u>Nelle ultime due settimane</u> ho pensato al bambino che si sta sviluppando principalmente come:*				
Una reale piccola persona con particolari caratteristiche	Un bambino come un altro bambino	Un essere umano	Una cosa vivente	Una cosa che realmente non vive ancora
7. <u>Nelle ultime due settimane</u> quando ho pensato al bambino che si sta sviluppando i miei pensieri:*				
Sono sempre stati teneri e affettuosi	Sono stati generalmente teneri e affettuosi	Sono stati un misto di tenerezza e di irritazione	Contenevano abbastanza irritazione	Contenevano molta irritazione
8. <u>Nelle ultime due settimane</u> le mie idee sui possibili nomi del bambino sono state:*				
Molto chiare	Abbastanza chiare	Abbastanza vaghe	Molto vaghe	Non ne ho nessuna idea
9. <u>Nelle ultime due settimane</u> quando ho pensato al bambino che si sta sviluppando ho provato sentimenti che erano:				
Molto tristi	Abbastanza tristi	Un misto tra felicità e tristezza	Abbastanza felici	Molto felici
10. <u>Nelle ultime due settimane</u> ho pensato a che tipo di bambino diventerà:				
Per nulla	Occasionalmente	Frequentemente	Molto frequentemente	Quasi tutto il tempo
11. <u>Nelle ultime due settimane</u> mi sono sentito:				
Molto distante emotivamente dal mio bambino	Abbastanza distante emotivamente dal mio bambino	Non particolarmente vicino emotivamente al mio bambino	Abbastanza vicino emotivamente al mio bambino	Molto vicino emotivamente al mio bambino
12. <u>Quando vedrò per la prima volta</u> il mio bambino dopo la nascita penso che proverò:*				
Intenso affetto	Soprattutto affetto	Affetto, ma penso che potrebbe esserci qualche aspetto del bambino che non mi piacerà	Penso che potrebbero esserci parecchi aspetti del bambino che non mi piaceranno	Penso che potrei provare soprattutto avversione
13. <u>Quando il mio bambino</u> sarà nato vorrei poterlo tenere:*				
Immediatamente	Dopo che sarà stato avvolto in una coperta	Dopo che sarà stato lavato	Dopo qualche ora, quando le cose si saranno calmate	Il giorno dopo
14. <u>Nelle ultime due settimane</u> ho avuto dei sogni sulla gravidanza o sul bambino:				
Per nulla	Occasionalmente	Frequentemente	Molto frequentemente	Quasi ogni notte
15. <u>Nelle ultime due settimane</u> mi sono scoperto a sentire con la mano o a sfregare la superficie della pancia della mia partner dove si trova il bambino:*				
Molte volte ogni giorno	Almeno una volta al giorno	Occasionalmente	Solo una volta	Mai
16. <u>Se la gravidanza</u> dovesse terminare in questo momento (a causa di un aborto spontaneo o di un altro evento accidentale che causi la perdita del bambino) senza alcun dolore o lesione per la mia partner, mi aspetterei di sentirmi:				
Molto contento	Abbastanza contento	Neutrale (cioè né triste né contento; o con sentimenti misti)	Abbastanza triste	Molto triste

A3. Scala per lo Stress Percepito (PSS)

(traduzione italiana Fossati)

Le domande contenute in questa scala riguardano i Suoi sentimenti e pensieri durante l'ultimo mese. Per ogni domanda, Le viene chiesto di indicare la sua risposta circolettando *la frequenza* con cui si è sentito o ha pensato in un certo modo.

Nome e cognome _____ Data _____
Età _____ Sesso (circolettare): **M** **F** Altro _____

0 = Mai 1 = Quasi mai 2 = A volte 3 = Abbastanza spesso 4 = Molto spesso

1. Nell'ultimo mese, con che frequenza si è sentito fuori di sé poiché è avvenuto qualcosa di inaspettato?..... **0 1 2 3 4**
2. Nell'ultimo mese, con che frequenza ha avuto la sensazione di non essere in grado di avere controllo sulle cose importanti della sua vita?..... **0 1 2 3 4**
3. Nell'ultimo mese, con che frequenza si è sentito nervoso o "stressato"?..... **0 1 2 3 4**
4. Nell'ultimo mese, con che frequenza si è sentito fiducioso sulla sua capacità di gestire i suoi problemi personali?..... **0 1 2 3 4**
5. Nell'ultimo mese, con che frequenza ha avuto la sensazione che le cose andassero come diceva lei?..... **0 1 2 3 4**
6. Nell'ultimo mese, con che frequenza ha avuto la sensazione di non riuscire a star dietro a tutte le cose che doveva fare?..... **0 1 2 3 4**
7. Nell'ultimo mese, con che frequenza ha avvertito di essere in grado di controllare ciò che la irrita nella sua vita?..... **0 1 2 3 4**
8. Nell'ultimo mese, con che frequenza ha sentito di padroneggiare la situazione?..... **0 1 2 3 4**
9. Nell'ultimo mese, con che frequenza è stato arrabbiato per cose che erano fuori dal suo controllo?..... **0 1 2 3 4**
10. Nell'ultimo mese, con che frequenza ha avuto la sensazione che le difficoltà si stavano accumulando a un punto tale per cui non poteva superarle?..... **0 1 2 3 4**

A.4. Toronto Alexithymia Scale (TAS-20)

(Bagby et al., 1994)

Cognome e Nome _____ Data _____

Indichi quanto è d'accordo con ciascuna delle seguenti frasi, mettendo una X nella casella appropriata. Indichi solo una risposta per ciascuna frase, tenendo presente che:

1. = non sono per niente d'accordo;
2. = non sono molto d'accordo;
3. = non sono né d'accordo né in disaccordo;
4. = sono d'accordo in parte;
5. = sono completamente d'accordo.

1.	Mi capita spesso di non capire bene che emozione provo	1	2	3	4	5
2.	Mi è difficile trovare le parole giuste per esprimere i miei sentimenti	1	2	3	4	5
3.	Provo delle sensazioni fisiche che neanche i medici capiscono	1	2	3	4	5
4.	Riesco a descrivere facilmente i miei sentimenti	1	2	3	4	5
5.	Preferisco approfondire i problemi piuttosto che descriverli soltanto	1	2	3	4	5
6.	Quando ho un imprevisto, non so se sono triste, spaventato o arrabbiato	1	2	3	4	5
7.	Sono spesso disorientato dalle sensazioni del mio corpo	1	2	3	4	5
8.	Preferisco che le cose vadano per il loro verso piuttosto che capire perché sono andate così	1	2	3	4	5
9.	Provo dei sentimenti che non riesco proprio a riconoscere	1	2	3	4	5
10.	Farsi coinvolgere dalle emozioni è fondamentale	1	2	3	4	5
11.	Mi è difficile descrivere ciò che provo per gli altri	1	2	3	4	5
12.	Gli altri mi chiedono di dire di più sui miei sentimenti	1	2	3	4	5
13.	Non capisco cosa stia accadendo dentro di me	1	2	3	4	5
14.	Spesso non so perché sono arrabbiato	1	2	3	4	5
15.	Con le persone preferisco parlare delle cose che fanno ogni giorno piuttosto che delle loro emozioni	1	2	3	4	5
16.	Preferisco guardare spettacoli leggeri piuttosto che spettacoli di tipo psicologico	1	2	3	4	5
17.	Mi è difficile rivelare i sentimenti più profondi, persino ai miei amici intimi	1	2	3	4	5
18.	Riesco a sentirmi vicino a una persona, anche se stiamo in silenzio	1	2	3	4	5
19.	Trovo che l'esame dei miei sentimenti mi serve a risolvere i miei problemi personali	1	2	3	4	5
20.	Cercare significati nascosti toglie il piacere di guardare un film o una commedia	1	2	3	4	5

A.5. Attachment Style Questionnaire (ASQ)

(Feeney, Noller, Hanrahan, 1994)

1 = Totalmente in disaccordo
 2 = Fortemente in disaccordo
 3 = Lievemente in disaccordo
 4 = Lievemente d'accordo
 5 = Fortemente d'accordo
 6 = Totalmente d'accordo

1. Nel complesso sono una persona valida	1	2	3	4	5	6
2. E' più facile arrivare a conoscere me che la maggior parte delle altre persone	1	2	3	4	5	6
3. Sono fiducioso che gli altri ci saranno quando avrò bisogno di loro	1	2	3	4	5	6
4. Preferisco dipendere da me stesso invece che dagli altri	1	2	3	4	5	6
5. Preferisco stare sulle mie	1	2	3	4	5	6
6. Chiedere aiuto vuol dire ammettere di essere un fallimento	1	2	3	4	5	6
7. Il valore di una persona andrebbe valutato in base ai suoi successi	1	2	3	4	5	6
8. Raggiungere gli obiettivi è più importante che costruire delle relazioni	1	2	3	4	5	6
9. Dare il massimo è più importante che andare d'accordo con gli altri	1	2	3	4	5	6
10. Se hai un lavoro da fare, non dovrebbe importarti di chi ne avrà un danno	1	2	3	4	5	6
11. Per me è importante piacere agli altri	1	2	3	4	5	6
12. Per me è importante evitare di fare delle cose che agli altri non piacciono	1	2	3	4	5	6
13. Trovo difficile prendere una decisione a meno che non sappia ciò che pensano gli altri	1	2	3	4	5	6
14. Le mie relazioni con gli altri sono solitamente superficiali	1	2	3	4	5	5
15. A volte penso di non valere nulla	1	2	3	4	5	6
16. Ho difficoltà a fidarmi degli altri	1	2	3	4	5	6
17. Ho difficoltà a dipendere dagli altri	1	2	3	4	5	6
18. Trovo che gli altri siano riluttanti a entrare in confidenza quanto io vorrei	1	2	3	4	5	6
19. Trovo relativamente facile entrare in confidenza con gli altri	1	2	3	4	5	6
20. Mi fido facilmente degli altri	1	2	3	4	5	6
21. Mi trovo a mio agio nel dipendere dagli altri	1	2	3	4	5	6
22. Mi preoccupa che agli altri non importerà di me quanto a me importa di loro	1	2	3	4	5	6
23. Mi preoccupa quando la gente entra troppo in confidenza con me	1	2	3	4	5	6
24. Mi preoccupa di non essere all'altezza degli altri	1	2	3	4	5	6
25. Ho sentimenti contrastanti circa l'essere in confidenza con gli altri	1	2	3	4	5	6
26. Se da un lato voglio entrare in confidenza con gli altri, dall'altro mi sento a disagio	1	2	3	4	5	6
27. Mi chiedo perché la gente voglia avere a che fare con me	1	2	3	4	5	6
28. Per me è veramente importante avere una relazione stretta	1	2	3	4	5	6
29. Mi preoccupa molto delle mie relazioni	1	2	3	4	5	6
30. Mi chiedo come me la caverei senza qualcuno che mi ama	1	2	3	4	5	6
31. Mi sento fiducioso nelle relazioni con gli altri	1	2	3	4	5	6
32. Spesso mi sento lasciato in disparte o solo	1	2	3	4	5	6
33. Spesso mi preoccupa di non riuscire ad entrare in sintonia con gli altri	1	2	3	4	5	6
34. Gli altri hanno i loro problemi per cui non li infastidisco con i miei	1	2	3	4	5	6
35. Quando discuto dei miei problemi con gli altri, di solito mi vergogno o mi sento stupido	1	2	3	4	5	6
36. Sono troppo impegnato in altre attività per dedicare molto tempo alle relazioni	1	2	3	4	5	6
37. Se qualcosa mi disturba, gli altri solitamente ne sono consapevoli e preoccupati	1	2	3	4	5	6
38. Sono fiducioso di essere gradito e rispettato dagli altri	1	2	3	4	5	6
39. Mi sento frustrato quando gli altri non sono disponibili nel momento in cui ne ho bisogno	1	2	3	4	5	6
40. Gli altri deludono le mie aspettative.	1	2	3	4	5	6

A.6. Edinburgh Postnatal Depression Scale (EPDS)

(Cox, Holden e Sagovskjy)

Rispondere a tutte le domande e sommare il punteggio. In genere si esegue dopo due settimane dalla nascita del bambino.

1) Negli ultimi 7 giorni sono stato capace di sorridere e vedere il lato divertente delle cose:

- Come sempre = 0 punti
- Un po' meno del solito = 1
- Decisamente meno del solito = 2
- Per niente = 3

2) Negli ultimi 7 giorni guardavo alle cose imminenti con gioia:

- Come sempre = 0 punti
- Un po' meno del solito = 1
- Decisamente meno del solito = 2
- Per niente = 3

3) Negli ultimi 7 giorni mi rimproveravo senza motivo quando le cose andavano male:

- Sì, per la maggior parte delle volte = 3 punti
- Sì, alcune volte = 2
- No, non molto spesso = 1
- No, mai = 0

4) Negli ultimi 7 giorni sono stata ansiosa e preoccupata senza una ragione:

- No, per niente = 0 punti
- Molto raramente = 1
- Sì, qualche volta = 2
- Sì, molto spesso = 3

5) Negli ultimi 7 giorni mi sono sentita spaventata o terrorizzata senza una vera ragione:

- Sì, abbastanza = 3 punti
- Sì, alcune volte = 2
- No, non molto spesso = 1
- No, mai = 0

6) Negli ultimi 7 giorni le cose mi sovrastano:

- Sì, per la maggior parte del tempo non riesco a cavarmela affatto = 3 punti
- Sì, a volte non riesco a cavarmela come al solito = 2
- No, la maggior parte delle volte me la cavo abbastanza bene = 1
- No, me la sono cavata come sempre = 0

7) Negli ultimi 7 giorni sono stata così infelice che da non riuscire a dormire:

- Sì, per la maggior parte del tempo = 3 punti
- Sì, alcune volte = 2
- No, non per molto = 1
- No, mai = 0

8) Negli ultimi 7 giorni mi sono sentita triste e abbattuta:

- Sì, per la maggior parte del tempo = 3 punti
- Sì, abbastanza spesso = 2
- No, non molto spesso = 1
- No, mai = 0

9) Negli ultimi 7 giorni mi sono sentita così triste da mettermi a piangere:

- Sì, per la maggior parte del tempo = 3 punti
- Sì, abbastanza spesso = 2
- Soltanto occasionalmente = 1
- No, mai = 0

10) Negli ultimi 7 giorni il pensiero di farmi del male mi è venuto in mente:

- Sì, abbastanza spesso = 3 punti
- Qualche volta = 2
- Quasi mai = 1
- Mai = 0