



**UNIVERSITÀ
DI PARMA**

DIPARTIMENTO DI MEDICINA E CHIRURGIA

CORSO DI LAUREA MAGISTRALE

IN PSICOBIOLOGIA E NEUROSCIENZE COGNITIVE

**Effetti delle modalità di allattamento e dell'ambiente
sulla crescita e lo sviluppo socio-emozionale del bambino
in una coorte del progetto Life MILCH.**

Relatore:

Chiar.ma Prof.ssa Paola Palanza

Laureanda:

Serena Giancola

ANNO ACCADEMICO 2021-2022

Indice

| | |
|---|-----------|
| INTRODUZIONE | 6 |
| 1. L'importanza dell'allattamento | 6 |
| 1.1 <i>L'allattamento esclusivo al seno.....</i> | <i>7</i> |
| 1.2 <i>La nutrizione con latte in formula</i> | <i>11</i> |
| 2. Gli Interferenti Endocrini | 13 |
| 2.1 <i>Esposizione agli Interferenti Endocrini</i> | <i>15</i> |
| 2.1.1 <i>Esposizione in fase prenatale</i> | <i>17</i> |
| 2.1.2 <i>Esposizione in fase post-natale</i> | <i>18</i> |
| 2.1.2.1 <i>Esposizione ad IE durante l'allattamento.....</i> | <i>19</i> |
| 2.2 <i>Effetti degli Interferenti Endocrini durante lo sviluppo</i> | <i>21</i> |
| 2.2.1 <i>Effetti sulla crescita e sullo sviluppo fisiologico</i> | <i>21</i> |
| 2.2.1.1 <i>Accrescimento pre e perinatale</i> | <i>21</i> |
| 2.2.1.2 <i>Metabolismo.....</i> | <i>22</i> |
| 2.2.1.3 <i>Maturazione sessuale</i> | <i>23</i> |
| 2.3 <i>Effetti sullo sviluppo neurocomportamentale</i> | <i>24</i> |
| 3. Il progetto <i>Life-MILCH</i> | 28 |
| SCOPO DELLA TESI | 32 |
| MATERIALI E METODI | 34 |
| 1. Campione | 34 |
| 2. Strumenti..... | 34 |
| 1. <i>Somministrazione dei questionari T0</i> | <i>35</i> |
| 2. <i>Visita Neonatologica T0</i> | <i>38</i> |
| 3. <i>Somministrazione dei questionari T1</i> | <i>41</i> |
| 4. <i>Visita neonatologica T1</i> | <i>43</i> |
| 5. <i>Somministrazione questionari T2</i> | <i>44</i> |
| 6. <i>Visita neonatologica</i> | <i>44</i> |
| 7. <i>Paradigma Face-to-Face Still Face</i> | <i>44</i> |
| <i>Analisi statistica.....</i> | <i>49</i> |
| 3. Procedura..... | 50 |
| 1. <i>Reclutamento</i> | <i>51</i> |
| 2. <i>Parto-Nascita (T0).....</i> | <i>51</i> |
| 3. <i>Primo mese (T1)</i> | <i>52</i> |
| 4. <i>Terzo mese (T2).....</i> | <i>53</i> |
| RISULTATI..... | 54 |

| | |
|--|-----------|
| 1. Analisi descrittiva delle MADRI..... | 54 |
| <i>Questionario Q1</i> | 55 |
| 1.1 Analisi dei dati del questionario Q1 | 56 |
| 2. Analisi descrittiva dei BAMBINI..... | 57 |
| 1. <i>Questionario Q3</i> | 57 |
| 1.1 Analisi dei dati del questionario Q3 | 58 |
| 2. <i>Visite neonatologiche</i> | 60 |
| 2.1 Analisi dei dati delle schede neonatologiche | 60 |
| 2.1.1 Peso | 61 |
| 2.1.2 Lunghezza | 63 |
| 2.1.3 Circonferenza cranica..... | 65 |
| 2.1.4 Distanza ano-genitale | 67 |
| 2.1.4.1 Anteriore..... | 67 |
| 2.1.4.2 Posteriore..... | 69 |
| 3. <i>Paradigma Face-to-face Still Face (FFSF)</i> | 71 |
| DISCUSSIONE | 73 |
| Appendice..... | 79 |
| Bibliografia..... | 80 |

INTRODUZIONE

1. L'importanza dell'allattamento

L'allattamento è il gesto tramite il quale il bambino viene nutrito, fisicamente e psico-affettivamente. Il latte materno fornisce tutti i nutrienti necessari alla crescita e l'allattamento, con la presenza attenta della madre, favorisce l'instaurarsi di una sincronia nella diade fondamentale alla creazione di un modello relazionale interattivo. Infatti, durante l'allattamento, il lattante segue un proprio ciclo di suzioni e pause, nelle quali la madre si inserisce per cullarlo. La mutua contingenza, l'alternanza dei turni e la risposta intuitiva materna gettano le basi per i pattern comunicativi, di scambio sociale e di dialogo verbale con l'Altro (Ammaniti & Gallese, 2014).

L'allattamento è un evento fisiologico importante per il bambino perché provvede all'apporto sia di nutrienti che di altri fattori quali anticorpi, ormoni, fattori di crescita ed enzimi digestivi che favoriscono l'acquisizione di protezione immunologica e antimicrobica (Costantini & Calistri, 2013). Tuttavia, l'allattamento esclusivo al seno non è sempre possibile. Impedimenti transitori materni (ad esempio, anomalie, ragadi del capezzolo e l'ingorgo mammario), condizioni materne avverse (ad esempio, infezione da HIV, Herpes simplex virus tipo 1 o farmaci incompatibili con l'allattamento) ed impedimenti assoluti causati da condizioni neonatali (ad esempio, galattosemia, peso inferiore ai 1500 g, rischio di ipoglicemia), possono portare ad impossibilità di allattamento al seno e conseguente necessità di utilizzare il latte in formula (trattato nel paragrafo "La nutrizione con latte in formula").

1.1 L'allattamento esclusivo al seno

L'allattamento al seno avviene tramite la mammella, la quale con l'insorgere della gravidanza e il parto è caratterizzata dai processi di maturazione della ghiandola mammaria: mammogenesi, lattogenesi e lattopoiesi. Ogni fase è guidata da specifici ormoni; progesterone, estrogeni, insulina e prolattina hanno la funzione di preparare le ghiandole mammarie (mammoegenesi). L'attività secretiva delle mammelle, lattogenesi, vede coinvolti: prolattina, ormone somatotropo ipofisario (GH), ormoni tiroidei, paratiroidei e insulina. Il mantenimento della secrezione latte, lattopoiesi, è promosso dalla suzione grazie al riflesso mammillo-ipotalamo-ipofisario che favorisce la produzione di prolattina.

La mammella è composta esternamente da capezzolo e areola, su cui troviamo i tubercoli di Montgomery, ghiandole che secernono un liquido in grado di tenere idratata la pelle per favorire l'attaccamento corretto del neonato al seno. Internamente è composta dalle ghiandole mammarie, al cui interno ci sono gli alveoli, formati da cellule muscolari e cellule responsabili della produzione del latte, poi raccolto nei seni galattofori. Per la fuoriuscita del latte dall'alveolo ai seni galattofori è necessaria la contrazione delle cellule muscolari, indotta dall'ossitocina tramite il riflesso mammillo-ipotalamo-ipofisario.

Il latte materno contiene numerose vitamine, oligosaccaridi, enzimi (ad esempio lisozima), proteine (ad esempio lattoferrina) e ha azione antiossidante, funzione immunomodulante e difensiva, oltre che nutritiva e trofica sull'intestino del bambino.

Dalla nascita la composizione varia dal latte chiamato "colostro" al "latte maturo" (Costantini & Calistri, 2013):

- colostro: già presente dall'ultimo trimestre di gravidanza al 5° giorno di vita del neonato; è caratterizzato da proteine e anticorpi in grado di aiutare, ad esempio, nella prevenzione di allergie, contiene più globuli bianchi del latte maturo in quanto fornisce la prima immunizzazione, ed è povero di lattosio e lipidi. Il colostro ha effetto lassativo per indurre il meconio del neonato, composto da prodotti di scarto accumulati nella vita intrauterina.
- Latte di transizione: presente dal 5° giorno di puerperio fino al 15° giorno; si fa più abbondante e simile alla composizione del "latte maturo"
- Latte maturo: molto energetico, contiene molte proteine solubili (diverse da quelle presenti nel latte vaccino come ad es. lattoglobulina, allergizzante, assente nel latte materno) e abbondanti glucidi (es lattosio). L'apporto vitaminico dipende dallo stato nutrizionale della madre ma è globalmente sufficiente per tutte le vitamine tranne le D e K.

Il latte materno ha funzione bioattiva perché consente la proliferazione batterica nell'intestino del neonato allattato, che contribuisce alla flora intestinale (Andreas, Kamlmann, & Le-Doare, 2015). Pertanto, il neonato che assume latte materno possiede un microbiota intestinale più stabile e più del doppio del numero di batteri rispetto a quello nutrito con latte in formula.

La crescita media del neonato grazie al latte materno è di 150-200 g/settimana e può quindi rappresentare l'esclusiva forma di alimentazione fino ai 6 mesi, e protrarsi anche in seguito al divezzamento (introduzione di cibi solidi) finché perdura il desiderio reciproco (SIP, 2015).

La durata totale dei mesi dell'allattamento è correlata positivamente con la salute del bambino e dipende dall'esclusività al seno. I primissimi momenti dopo la nascita sono fondamentali per far sì che si instauri una corretta lattazione. Il contatto precoce pelle-a-pelle riduce le supplementazioni di latte o integratori e calma il pianto. Inoltre, il rooming-in -ossia la permanenza nella stessa stanza nelle 24 ore successive al parto- favorisce l'allattamento a domanda e migliora l'attacco adeguato al seno materno (Società italiana di neonatologia SIN, 2002).

Un grande contributo sull'importanza del latte materno per lo sviluppo fisico e cerebrale dell'uomo proviene dagli studi sui bambini nati pretermine, i quali hanno maggior rischio di complicanze nella crescita, di infezioni ed enterocoliti necrotizzanti.

Il latte materno con cui è nutrito il bambino prematuro contiene un numero molto maggiore di proteine e di concentrazioni di sodio e cloro rispetto al latte delle donne con parti a termine. Studi condotti tramite DTI (risonanza magnetica con tensore di diffusione) sulla sostanza bianca in cervelli di bambini pretermine che sono stati nutriti con proteine enterali somministrate per via parenterale, nei 28 giorni post-nascita, dimostrano un'associazione positiva tra la quantità di proteine assunte e la maggiore integrità nella materia bianca e connettività cerebrale (Hortensius, et al., 2021) (Blesa, et al., 2019). Quindi il latte materno è in grado anche di promuovere la crescita del neonato, sopperendo all'imatura maturazione cerebrale (sia in termini di struttura, misura e funzioni) a causa della nascita prima del termine gestazionale.

Ci sono anche evidenze sulle influenze che il latte ha sullo sviluppo psico-intellettuale, in quanto è ricco di componenti necessari alla formazione delle cellule del sistema nervoso centrale, come gli Acidi Grassi Polinsaturi a Catena Lunga (LC-PUFA).

L'assunzione esclusiva di latte materno è associata anche alle performance nei test d'intelligenza. Uno studio di una meta-analisi mostra che i soggetti che hanno assunto esclusivamente latte materno nei primi 6 mesi di vita hanno dimostrato maggiori punteggi QI a 12 anni, rispetto a coloro che lo hanno assunto solo il primo mese di vita (Horta, Loret de Mola, & Victora, 2015).

Un altro fattore che comporta benefici allo sviluppo cognitivo è la durata in mesi dell'allattamento al seno comporta. Lo sviluppo cognitivo di neonati nutriti esclusivamente con latte materno dalla nascita fino ai 7/9 mesi, è stato valutato intorno ai 18 anni in termini di performance verbali nella scala WAIS (Wechsler, 1958). I risultati mostrano che i soggetti che hanno assunto per più tempo (dalla nascita ai 9 mesi) il latte materno ottenevano punteggi migliori rispetto a coloro che lo hanno assunto per meno di un mese dalla nascita (Mortensen, Michaelsen, & Sanders, 2002).

Il latte materno inoltre contiene sostanze attive come modulatori della crescita, che esercitano effetti metabolici, regolarizzando la crescita e la differenziazione del tratto gastrointestinale del neonato (Costantini & Calistri, 2013). Tra queste sostanze ci sono gli ormoni insulina, fattore di crescita dell'insulina-1 (IGF-1) e l'EGF (Epidermal Growth Factor) e sono necessari per la sintesi di nuove proteine, per l'assorbimento del glucosio e per la maturazione cellulare intestinale.

Il nutrimento durante l'infanzia influenza la struttura corporea, il sovrappeso e l'obesità da adulto, ed esistono delle differenze se avviene tramite latte materno o in formula. A 6 mesi i neonati che si nutrono di latte in formula mostrano minore percentuale di massa grassa; mentre poi a 12 mesi coloro che hanno assunto latte artificiale pesano in media 400-600 g in più dei bambini allattati al seno (Gale, et al., 2012).

1.2 La nutrizione con latte in formula

Il latte in formula è stato studiato e creato come alternativa al latte materno.

Il latte artificiale contiene lipidi, acido linoleico, glucidi e proteine. Ha simile apporto energetico del latte materno, ma non contiene caseina e le sieroproteine (necessarie per la protezione dalle infezioni) e gli acidi grassi polinsaturi a catena lunga responsabili della modulazione del neurosviluppo, e l'acido sialico presente in grandi quantità nel cervello e associato all'apprendimento (Wang, et al, 2003). Il latte artificiale contiene concentrazioni di ferro molto elevate, tuttavia il coefficiente di assorbimento del neonato fino ai 6 mesi è molto basso (Pang, et al., 2020).

Esistono diverse tipologie in commercio in base alle caratteristiche nutritive e all'età del bambino: Formula di tipo 1 (utilizzati dalla nascita ai 6 mesi di vita), Formula di tipo 2 (o di proseguimento, indicato tra i 6 e 12 mesi, con più ferro) e Latte di crescita (dopo i 12 mesi). I componenti del latte artificiale derivano dal latte vaccino (di mucca, capra, asina) o dal latte vegetale (di soia, avena, mandorla, riso), e sono adattati alle necessità nutritive del neonato.

La differenza nella scelta del latte in formula comporta differenze nello sviluppo cognitivo del neonato; uno studio ha indagato le differenze tra i bambini che assumevano latte derivato dalle proteine della soia o della mucca nella performance delle aree percettive sensoriali, problem solving, sviluppo psicomotorio e linguaggio. I risultati delle performance a 6 e a 12 mesi nelle aree della percezione sensoriale, nel problem solving, nello sviluppo psicomotorio e nel linguaggio, erano a favore di coloro allattati esclusivamente al seno, ricevendo punteggi maggiori nella valutazione Bayley-III (Bayley Scales Test III edizione, 2009) rispetto ai bambini nutriti con latte artificiale (Andres, et al., 2012).

I prodotti a base di soia contengono isoflavoni, della categoria dei fitoestrogeni cioè sostanze di origine vegetale ad azione e struttura simile agli estrogeni. Il latte in formula derivato dalle proteine della soia contiene alti livelli di isoflavoni, e può quindi avere effetti estrogenici che possono influenzare lo sviluppo del Sistema Nervoso Centrale. Gli effetti fisiologici dell'assunzione del latte di soia in formula sono visibili nel periodo definito della "minipubertà", quel periodo intorno ai 3 mesi di vita in cui la formazione del sistema riproduttivo del neonato è molto sensibile agli ormoni steroidei (specialmente gli estrogeni).

Altri studi hanno indagato gli effetti sul differente sviluppo del tratto riproduttivo femminile in seguito a cambiamenti indotti dall'estrogeno (Suen, Kenan, & Williams, 2022). Nei maschi le maggiori differenze associate all'assunzione di latte derivato dalle proteine della soia, rispetto a neonati allattati al seno, sono rintracciabili nei primi 3 mesi di vita in una più rapida crescita della lunghezza del pene, e un più lento accrescimento della distanza anogenitale, sebbene non siano stati individuate differenze nelle traiettorie ormonali, mostrando livelli di testosterone nella norma (Chin, et al., 2021).

Dunque, così come è pervasiva la presenza di inquinanti ambientali nella vita quotidiana, è anche tramite l'allattamento che il bambino potrebbe essere esposto a sostanze inquinanti, come ad esempio accade per gli IE: l'allattamento non esclusivo al seno coinvolge l'utilizzo di una serie di contenitori in plastica, i cui materiali non è sempre garantito siano privi di BPA o PCB; ma è plausibile anche che l'esposizione agli inquinanti avvenga tramite latte materno, in cui sono stati rilevati livelli di contaminazione di IE (Chao, Lee, Wang, & Papke, 2007).

2. Gli Interferenti Endocrini

Gli Interferenti Endocrini (IE) sono sostanze chimiche in grado di interferire con il normale funzionamento del sistema endocrino, il quale si occupa della produzione di ormoni necessari alla regolazione dell'organismo (Vanderberg, et al., 2012). La Endocrine Society definisce gli IE come “*sostanze chimiche che mimano, bloccano o modificano i segnali inviati dagli ormoni*”, indicandoli come possibili fattori di rischio di patologie legate al sistema endocrino, come ad esempio: patologie riproduttive femminili (ad esempio, endometriosi, aborto e infertilità) o maschili (ad esempio, criptorchidismo e ipospadia), obesità e diabete, cancro ormone-dipendente, problemi alla tiroide e disturbi cognitivo-comportamentali (Gore, et al., 2015).

Gli interferenti endocrini agiscono legandosi ai recettori degli ormoni, interferendo con la normale attività degli ormoni endogeni, attivando ad esempio una risposta eccessiva, o una inibizione oppure non permettendone la risposta (Figura 1). Oltre ad alterare la normale attività degli ormoni endogeni gli IE possono anche stimolarne o inibirne la sintesi, come sono in grado anche di interferire nella degradazione e nella sintesi delle proteine-trasporto che si legano agli ormoni (Combarnous & Nguyen, 2019).

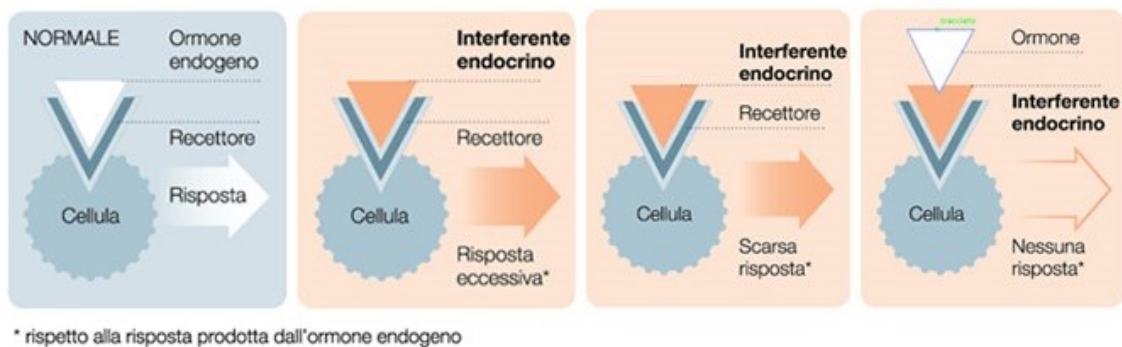


Figura 1 Meccanismo di interferenza endocrina

Tra i meccanismi d'azione degli IE, si può prendere da esempio quello esercitato sugli ormoni steroidei (sintetizzati a partire dal colesterolo) dove gli IE possono agire come agonisti sui recettori per gli estrogeni oppure come antagonisti dei recettori per gli androgeni. Gli estrogeni vengono prodotti principalmente dall'ovaio e in parte dalle ghiandole surrenali (come, ad esempio, l'estradiolo) ed hanno la funzione di regolare la maturazione dell'apparato genitale e il ciclo mestruale; inoltre regolano la distribuzione del grasso corporeo. Gli androgeni (es. il testosterone) sono prodotti dalle ghiandole sessuali femminili e maschili e dalle surrenali, e permettono ad esempio nell'embrione la differenziazione in senso maschile dei genitali e in pubertà lo sviluppo dei caratteri sessuali secondari (Iughetti, Lucaccioni, Bernasconi, & Predieri, 2019). Un'alterazione di questi sistemi comporta una diversa traiettoria nello sviluppo riproduttivo.

Tra i principali IE si ritrovano (Iughetti, et al., 2019), (Nelson, et al., 2019):

- Ftalati: ad azione sia anti-androgenica, sia agonista/antagonista sui recettori degli estrogeni. Sono sostanze ubiquitarie presente nelle plastiche monouso, nei prodotti di cancelleria, nei prodotti di cura personale, perché hanno la specificità di rendere morbida la plastica; uno degli ftalati più diffusi è il DEHP.
- *Bisfenolo A* (BPA): azione simil-estrogenica. Aggiunto a molti prodotti di consumo, nel PVC, nelle bottiglie di plastica per uso alimentare e nelle lattine per gli alimenti.
- *Diossine*: generate da processi termici e industriali, vanno ad accumularsi nella catena alimentare, insediandosi nel tessuto adiposo animale.

- *PoliCloroBifenili (PCB)*: utilizzati nell'industria tessile della pittura, nei rivestimenti superficiali, nei componenti di apparecchiature elettriche come liquido isolante; sono anche detti simil-diossine a causa degli effetti simili;
- *Acido perfluorooottanoico (PFOA)* e *acido perfluorooottansolfonico (PFOS)*: della famiglia delle sostanze perfluoroalchiliche, utilizzate nelle concerie, nella produzione di carta e cartone ad uso alimentare, nel rivestimento di padelle antiaderenti e nel vestiario tecnico, per le caratteristiche oleo/idrorepellenti; studi sul modello animale ne indicano azione agonista per un recettore ormonale implicato nella regolazione del metabolismo lipidico, ma non sono ancora stati rilevati effetti analoghi nell'uomo (Minoia, et al., 2008);
- *Difenil eteri polibromurati (PBDE)* utilizzati nei prodotti di consumo come le schiume poliuretatiche, materassi, imbottiture per tappeti e maggiormente come ritardati di fiamma polibromurati; hanno azione simil-estrogenica (se esposizione pre-natale) e simil-androgenica (se postnatale).
- *pesticidi clorurati (OCP/DDT)*, ad uso agricolo e domestico; hanno azione anti-androgenica, o simil-estrogenica, o inducono l'enzima aromatasi.
- metalli presenti nell'ambiente come inquinanti (Pb, Cr)
- *Idrocarburi Policiclici Aromatici (PAHs)* a cui siamo esposti in ambiente casalingo per eccessiva cottura degli alimenti, tramite la frittura, l'affumicatura e la tostatura.

2.1 Esposizione agli Interferenti Endocrini

Gli IE possono essere di origine naturale o artificiale, e ne siamo esposti attraverso l'alimentazione, l'aria, i cosmetici, i pesticidi e molte altre sostanze di uso quotidiano.

La classe degli IE a origine naturale include quelle sostanze di origine vegetale (come, ad esempio, i fitoestrogeni) che simulano l'azione di ormoni prodotti dal nostro organismo (ad esempio estrogeni e testosterone) talvolta contenute nei farmaci e nei fitofarmaci, per trattare perlopiù patologie del sistema endocrino come l'ipotiroidismo, oppure utilizzati nella contraccezione ormonale.

Gli interferenti ad origine artificiale invece sono prodotti di sintesi da parte dell'uomo, sia come risultato di un'attività dedicata (creazione dei pesticidi e plastificanti) sia derivati incidentalmente dai processi industriali e di combustione.

Gli IE compromettono il funzionamento del sistema endocrino e quindi quello riproduttivo, agendo così anche a lungo termine e in maniera multigenerazionale, cambiando il modo di guardare alla tossicità (Street, et al., 2018). Recenti ricerche mostrano che l'esposizione agli Interferenti Endocrini durante i periodi sensibili di sviluppo ha effetti epigenetici transgenerazionali (Horan, Marre, Hassold, Lawson, & Hunt, 2017). Per coinvolgere quattro generazioni è sufficiente anche l'esposizione indiretta: in gravidanza simultaneamente sono esposti a IE: 1) donna, 2) feto, 3) cellule germinali del feto (Patisaul, 2021).

Data la presenza pervasiva degli IE nell'ambiente, l'esposizione del bambino inizia già nel periodo prenatale mediante la placenta e nel periodo post-natale durante l'allattamento. Questi periodi rappresentano momenti sensibili perché i processi di sviluppo sono governati principalmente dagli ormoni, e ne consegue che alterazioni del sistema in questa fase critica possono determinare alterazioni nei normali processi fisiologici di sviluppo.

2.1.1 Esposizione in fase prenatale

La gravidanza rappresenta un periodo molto sensibile per la donna e il feto: secondo l'ipotesi *Developmental Origin of Health and Disease* (DOHaD) ciò che avviene in questo periodo può determinare delle conseguenze immediate nello sviluppo o conseguenze che saranno evidenti nel periodo post-natale o nella vita adulta (Palanza, et al., 2016). Durante tutto il periodo della gravidanza, l'interazione madre-feto avviene tramite la placenta, una complessa struttura morfo-funzionale deputata alla regolazione delle interazioni fisiologiche: nutrizione, ossigenazione ed eliminazione dei prodotti di scarto del feto. Il neurosviluppo fetale è regolato da ormoni, di cui la placenta ha il compito di regolarne le funzioni endocrine nel cervello del feto. La placenta svolge inoltre il ruolo di coordinatore con ipofisi e tiroide, gonadi e surrene, instaurando un legame così sostanziale tanto da essere definito Asse cervello-placenta (Behura, et al., 2019).

Essendo dotata di numerosi recettori ormonali steroidei la placenta è altamente sensibile agli interferenti endocrini; inoltre, alcune sostanze presenti nella circolazione materna superano la barriera placentare e si immettono nella circolazione fetale come, ad esempio, i bisfenoli (Gingrich, Tichiani, & Veiga-Lopez, 2020).

Infatti, studi recenti mostrano una correlazione tra le concentrazioni di BPA nel plasma materno e ridotto peso alla nascita del neonato, suggerendo che l'esposizione a tali sostanze sia dovuto alla permeabilità della placenta (Zbucka-Krętowska, et al., 2019).

Fino agli anni '70 alle donne in gravidanza veniva somministrato il *diethylstilbestrolo* (DES), una sostanza ad azione simil-estrogena utile per prevenire l'aborto, poiché in grado di stimolare la sintesi di estrogeno e progesterone nella placenta. Questa sostanza è stata somministrata a circa 6 milioni di donne, finché non è stato individuato e

confermato il link con un carcinoma cervice-vaginale molto raro, il CCAC (clear cell adenocarcinoma). Inoltre, nelle figlie femmine l'esposizione prenatale a DES è stata correlata a displasia e adenosi vaginale, anormalità alla cervice, all'utero e alla vagina, fertilità ridotta, parto pretermine. Nei figli maschi, invece è stata correlata a malformazioni urogenitali, cancro ai testicoli, scarsa qualità seminale e mancata discesa testicolare (Patisaul, 2021).

Altre evidenze sull'esposizione prenatale a IE riguardano gli effetti sul peso alla nascita del bambino. Una meta-analisi condotta in Europa su 12 studi-coorte su circa 8000 madri ha rilevato che per ogni 1- μ g/L di PCB isurato in campioni di sangue materno e cordonale, il peso del bambino alla nascita diminuiva di 150 g (Govarts, et al., 2012).

In un ulteriore studio sono state raccolte misurazioni, tramite ultrasuoni, del peso fetale nella vita prenatale ed è stata riscontrata un'associazione tra il basso peso fetale e l'alta esposizione a un mix di ftalati, bisfenoli e pesticidi. La stessa associazione era anche predittiva del ridotto peso alla nascita del neonato (van den Dries, et al., 2021).

Per il feto un'altra fonte di esposizione prenatale è stata rilevata nella tipologia di mestiere svolto dalla donna in gravidanza: una meta-analisi europea ha coinvolto 140.000 donne che hanno continuato a svolgere il proprio mestiere fino al concepimento; ad ognuna di esse è stato attribuito un punteggio di probabile esposizione in base alla professione svolta. Coloro classificate come "possibilmente esposte ad EDC" erano le donne i cui figli mostravano ridotto peso alla nascita (Birks, et al., 2016).

2.1.2 Esposizione in fase post-natale

Dalla nascita in poi il neonato sarà a diretto contatto con l'ambiente esterno, e per questo subirà gli effetti degli IE senza più la mediazione materna.

Le modalità tramite cui il neonato è esposto maggiormente agli IE sono l'alimentazione (approfondita nel paragrafo 2.1.2.1) e l'ambiente esterno. Nello specifico, tra i principali fattori di esposizione si annoverano i prodotti per la cura del corpo, l'abbigliamento (sono state rilevate tracce nei calzini per neonati), ma anche la polvere di casa ingerita portandosi le mani e i giochi alla bocca; infatti, l'inquinamento ambientale risulta essere un fattore di esposizione non trascurabile per il fatto che i neonati risultano avere concentrazioni di PBDE 140 volte quelli degli adulti che vivono nello stesso ambiente (Jones-Otazo, et al., 2005).

Un'altra modalità tramite cui il neonato è esposto a BPA è mediante la saliva (almeno 8 ore al giorno è con il ciuccio) anche se i livelli sono molto inferiori a quelli presenti nelle baby bottles (Lassen, Mikkelsen, & Brandt, 2011).

Oltre a questi fattori ambientali, anche l'allattamento al seno sembrerebbe contribuire all'esposizione postnatale agli IE, tramite esposizione del latte materno a contaminazioni da inquinanti ambientali (Lopes, Barreiro, & Cass, 2016) (Lackmann, 2006).

2.1.2.1 Esposizione ad IE durante l'allattamento

La stima più alta dell'esposizione tramite la dieta risulta essere quella dei bambini fino ai 6 mesi nutriti esclusivamente con latte in formula in bottiglie in polycarbonato (PC); questo spiegato dal fatto che la contaminazione avviene sia nel contenitore della formula, sia dal biberon; una volta avvenuto il divezzamento, o meglio, introdotta l'alimentazione complementare di cibi solidi (6-36 mesi) diminuisce anche l'esposizione a BPA in relazione al peso corporeo (Geens, et al., 2012).

Infatti, i biberon in polycarbonato se esposti alle alte temperature della lavastoviglie o del microonde possono condurre migrazione di BPA dalla plastica al liquido contenuto

(Siddique, Zhang, Coleman, & Kubwabo, 2021) (Beal, 2018). La diminuzione del rilascio si ha dopo una decina di utilizzi (Maragou, et al., 2008); perciò i biberon in BPA e PC sono vietati al commercio, sostituiti da quelli in polipropilene, silicone, poliammide e Tritan™ (Simoneau, Eede, & Valzacchi, 2012).

Gli IE sono così pervasivi nell'ambiente in cui viviamo, tanto da essere state rintracciate contaminazioni anche nel latte materno.

In uno studio condotto nell'area di Napoli e Caserta (zona nota per la maggiore esposizione a rifiuti e incendi in Italia) sono stati analizzati campioni di latte materno, i quali mostrano la pervasività di PCB e diossine, con concentrazioni associate all'età della madre e all'esposizione a incendi ai rifiuti. L'associazione con l'età materna è spiegata dalla proprietà bioaccumulativa degli IE nel tempo; la contaminazione nel latte materno avviene a causa del suo alto contenuto di grassi e perché si deposita nel tessuto adiposo delle ghiandole mammarie (Barreiro, 2016). Mentre le concentrazioni di diossina risultano maggiori in quel campione di donne che vivono nelle aree considerate a basso rischio di esposizione agli incendi, rispetto a quelle delle zone ad alto rischio (Rivezzi, et al., 2013); questo perché non si tiene conto degli incendi ai rifiuti illegali.

Una ricerca condotta in Germania ha indagato i livelli di tossine ambientali (PCB) con cui i neonati entrano in contatto; sulla base delle analisi condotte su campioni di sangue del neonato prelevati a 6 settimane, 3, 6 e 12 mesi è emerso che: in neonati allattati esclusivamente al seno per i primi 6 mesi di vita sono stati rilevati valori di PCB (e altre sostanze inquinanti) significativamente più alti rispetto a coloro che hanno allattato tramite biberon (Lackmann, 2006).

Nonostante la contaminazione da IE nella dieta del neonato possa avvenire anche su un alimento la cui composizione è unica e specie-specifico, il latte materno risulta essere

comunque la migliore forma di nutrimento per il bambino, essendo adattata ai suoi bisogni e alla sua crescita. Per questo motivo è necessario ridurre l'esposizione agli IE, con particolare attenzione a quei periodi delicati per la salute e lo sviluppo dell'organismo.

2.2 Effetti degli Interferenti Endocrini durante lo sviluppo

L'attività degli IE si esplica prevalentemente durante i periodi "finestra", quelle fasi della crescita del bambino particolarmente suscettibili ai cambiamenti epigenetici, come vita prenatale, postnatale e pubertà (Iughetti, et al., 2019). I principali ormoni endocrini deputati alla regolazione dello sviluppo sono l'ormone della crescita (che stimola l'accrescimento di ossa e muscoli) gli ormoni tiroidei (che controllano il metabolismo) e gli ormoni sessuali (tipologia di ormoni steroidei responsabili dello sviluppo e del mantenimento dei caratteri sessuali secondari) (Stefani & Taddei, 2017).

Gli ormoni producono effetti a concentrazioni estremamente basse, motivo per cui sono potenti ed efficaci molecole-segnale. Molti interferenti endocrini mimano questa loro funzione, agendo anche a bassi dosaggi (Litwack, 2014).

2.2.1 Effetti sulla crescita e sullo sviluppo fisiologico

2.2.1.1 Accrescimento pre e perinatale

L'esposizione agli IE durante la gravidanza è stata associata anche a generali restrizioni di crescita intrauterina e parto pretermine. In particolare, i neonati maschi mostrano un più ridotto peso alla nascita; mentre sia maschi che femmine hanno ridotta lunghezza e minore circonferenza toracica (Iughetti, et al, 2019).

L'effetto sul feto dell'esposizione a concentrazioni di BPA (rilevate nell'urina materna al terzo trimestre di gravidanza) è negativamente associato alla lineare crescita intrauterina, misurati in base alla lunghezza del femore (Street, et al., 2018).

Anche l'andamento della crescita nel primo anno di vita è stato associato all'esposizione prenatale agli IE: dati provenienti dallo studio HOME (Health Outcomes and Measures of Environment) hanno rilevato una correlazione tra ridotto peso alla nascita ed elevati livelli di esposizione in utero a pesticidi (OPP), metalli pesanti (Piombo) e PFAS (Woods, et al, 2017).

2.2.1.2 Metabolismo

A partire dagli anni 2000 si è maggiormente indagato il legame tra disordini metabolici e aumento nella produzione industriale di prodotti chimici: Grun e Blumberg coniano il termine “*obesogeno*”, relativamente alle proprietà estrogene degli IE ambientali (come DES, BPA, TBT). L'ipotesi sta nel ricondurre l'epidemia dell'obesità del XXI secolo, oltre alla diminuzione dell'attività fisica e all'aumento dell'apporto calorico, all'esistenza di molecole che regolano inappropriatamente il metabolismo lipidico e l'adipogenesi; quindi la predisposizione all'obesità sarebbe già da rintracciare nell'esposizione agli obesogeni ambientali in utero e nei primi anni di vita (Grün & Blumberg, 2006). Nel 2015 a Parma un gruppo di esperti multidisciplinari unisce le scoperte più recenti dal modello animale e dagli studi epidemiologici, e concordano nel ritenere riduttivo il termine obesogeno, perché gli interferenti endocrini agiscono anche come fattori scatenanti il diabete di tipo 2 e le disfunzioni cardiovascolari (Heindel, et al., 2015). Una delle modalità di interferenza è ad azione ormonale: nello specifico gli ormoni sessuali regolano anche i processi metabolici e di conseguenza la loro modalità d'azione è sessualmente dimorfica. In questo senso la distribuzione del tessuto adiposo nel corpo è regolata da meccanismi ormone-dipendenti sesso-dimorfici: l'uomo tende ad accumulare tessuto adiposo viscerale (intestino, reni, fegato, muscoli) ed è associato al rischio di sviluppare patologie cardiovascolari e diabete di tipo 2, mentre nella donna fino alla menopausa, l'adipe si concentra nel sottocutaneo. Gli estrogeni e i propri

recettori proteggono dall'obesità aumentando l'espandibilità delle cellule adipose nell'adipe sottocutanea e inibendola nella zona viscerale, ma anche aumentando il dispendio energetico e riducendo l'appetito (Palmer & Clegg, 2015).

2.2.1.3 Maturazione sessuale

La pubertà umana sta sempre più anticipando i tempi, passando dall'età media di 17 anni di 200 anni fa ai 13 degli ultimi decenni.

Il menarca (la comparsa delle prime mestruazioni) è un evento importante nella pubertà fisiologica delle femmine ed è un evento estrogeno-dipendente.

In uno studio (Blanck, et al., 2000) è stata dimostrata un'insorgenza precoce del menarca in bambine esposte ad alte concentrazioni di una particolare classe di interferenti endocrini, i PBDE, sia durante lo sviluppo fetale che nella vita post-natale (attraverso l'allattamento al seno). Le bambine esposte, non soltanto in utero, ma anche tramite il latte materno a PBDE maturavano 1 anno prima, suggerendo che la maggiore esposizione agli IE che agiscono in maniera simil-estrogena possano avere effetti sullo sviluppo riproduttivo.

L'esordio della pubertà potrebbe essere influenzato anche dai livelli di esposizione ad altri IE, come emerge da uno studio longitudinale americano (Berger, et al., 2018) in cui ftalati e BPA sono stati identificati come fattori in grado di ritardare la pubertà nelle ragazze e di anticiparla nei ragazzi. Non solo, le associazioni differivano anche in base al sovrappeso anticipando la pubertà e il gonadarca nella prole maschile (Berger, et al., 2018).

Oltre agli effetti sulla pubertà, numerose evidenze scientifiche vedono coinvolti gli IE nei disturbi riproduttivi maschili. Nello specifico, l'esposizione a ftalati è stata associata

all'incompleta discesa testicolare, ridotto volume testicolare e misura del pene e ridotta distanza ano-genitale (AGD), una condizione denominata "phtalate syndrome" (Swan, et al., 2015). Il meccanismo d'azione degli ftalati infatti è antiandrogeno, cioè in grado di ridurre la produzione fetale di testosterone testicolare. Un biomarker utilizzato per valutare l'esposizione prenatale a sostanze con azione antiandrogena è la misurazione della AGD in quanto essa risente dell'effetto antiandrogeno degli IE (Swan, et al., 2015). Questa misura viene di norma utilizzata per determinare il sesso dei cuccioli di roditore: nei maschi l'AGD è maggiore che nelle femmine. Numerosi studi su roditore mostrano che nella prole maschile, minore è la misura della AGD, minore è stata l'esposizione agli androgeni in utero (de-mascolinizzazione); al contrario nelle femmine, maggiore è la distanza ano-genitale maggiore è l'esposizione in utero (Foster, 2006). Nell'uomo, invece, una più corta distanza anogenitale è associata con una minore concentrazione di sperma, minor numero totale e minore motilità degli spermatozoi (Thankamony, et al., 2015), dunque con minore fertilità riproduttiva maschile.

Un ulteriore componente dell'apparato maschile sensibile all'esposizione agli IE è il liquido seminale: la concentrazione e motilità degli spermatozoi sembrerebbero avere una correlazione negativa con i livelli di BPA rilevato sia nel siero materno, che nello sperma e nelle urine di ragazzi e nel sangue cordonale di neonati (Adoamnei, et al., 2018), (Minatoya, et al., 2017).

2.3 Effetti sullo sviluppo neurocomportamentale

Gli impatti dell'esposizione a IE sullo sviluppo a livello cognitivo e comportamentale si esplicitano lungo l'arco di vita, specialmente per quegli aspetti sociali ed emozionali osservabili quando il bambino matura la capacità di interazione in contesti sociali e uno

sviluppo psicomotorio avanzato (Raja, Subahshree, & Kantayya, 2022). Come precedentemente illustrato, la finestra d'azione prediletta dagli IE è nei periodi critici di sviluppo, e quindi la fase embrionale, la fase perinatale e la pubertà. Ad esempio, il sistema ormonale tiroideo risente dell'azione di bisfenoli e ftalati già a livello embrionale tra la quinta e l'ottava settimana gestazionale (Gao, et al., 2017), e questo rappresenta un fattore di rischio per lo sviluppo e la neurogenesi (de Escobar, Obregon, & del Rey, 2004).

Allo stesso tempo, anche gli ormoni sessuali sono responsabili del neurosviluppo, hanno effetti organizzativi sul cervello, di conseguenza le interferenze degli IE durante queste prime fasi di sviluppo potrebbero compromettere i normali processi di neurosviluppo (Palanza, et al., 2021).

Studi sullo sviluppo emozionale e del comportamento nell'uomo hanno evidenziato che l'esposizione agli IE nei primi periodi di vita si manifesta in problemi comportamentali che emergono nel periodo prescolastico, ossia quando il bambino inizia ad interagire con i propri coetanei (Evans, et al., 2014). Ad esempio, i maschi tendono ad esibire tratti oppositivi-provocatori, aggressività e maggiore rischio di sviluppare comportamenti legati al disturbo da Deficit dell'attenzione e iperattività (ADHD), in relazione a maggiori livelli di interferenti rilevati (Palanza, et al., 2021). In uno studio questi problemi comportamentali sono stati associati ai livelli di BPA presenti nell'urina materna nel periodo gestazionale (Evans, et al., 2014). Nelle femmine, in relazione all'esposizione agli IE, sono più evidenti disregolazioni nel controllo emotivo e maggiori comportamenti esternalizzanti, fino a volte a sfociare in disturbi della condotta nell'infanzia (Braun, et al., 2011).

Ulteriori studi mostrano che l'esposizione in epoca prenatale ad alti dosaggi di BPA può avere effetti sul comportamento infantile in modo differente nei due sessi (Perera, et al., 2012). Uno studio ha coinvolto longitudinalmente i bambini fino all'età scolare, rilevando tra i bambini di sesso maschile punteggi maggiori (ossia maggiori problemi) nella "Reattività Emozionale" e nel "Comportamento Aggressivo" nella Child Behavior Check List CBCL (Achenbach, 1981); mentre le bambine ricevevano punteggi minori in tutte le scale sindromiche, ad eccezione della voce "Ansioso/Depresso" e "Comportamento Aggressivo" dove invece raggiungevano significatività (Kobrosly, et al., 2014).

Gli effetti dell'esposizione agli IE sono rintracciabili anche nelle diverse componenti dello sviluppo cognitivo, specialmente tramite la valutazione della memoria, dell'attenzione e della velocità di apprendimento e processazione delle informazioni. Bambini di 7 mesi di fronte ad un task di preferenza visiva alla novità con eye-tracking (in cui la proporzione del tempo impiegato nell'osservare un nuovo volto è la misura dell'immagazzinamento in memoria e quindi del riconoscimento) mostrano un decremento nella *recognition memory* (Dzwilewski, et al., 2021). Conferme degli effetti sulla memoria provengono dal modello animale, ad esempio in ratti maschi esposti nella fase perinatale a basse dosi di BPA. Se sottoposti al MAZE test (una prova che testa l'apprendimento spaziale e la memoria in un labirinto) impiegano molto più tempo e compiono molti più errori per raggiungere l'obiettivo, rispetto al gruppo controllo (Kuwahara, et al., 2013).

Infine, l'esposizione ai metalli pesanti sembrerebbe essere uno dei fattori di rischio per la sindrome dello spettro autistico (ASD); sebbene non sia stato individuato un unico fattore scatenante, parte dei fattori di rischio sono individuati nelle popolazioni

maggiormente esposte a metalli pesanti (un esempio ne è il mercurio: (Dickerson, et al., 2015) e agli interferenti endocrini, anche se in merito a questi ultimi c'è ancora un limitato numero di studi. L'ASD rappresenta una delle disabilità più comuni tra i disordini del neurosviluppo, ed è per questo motivo che la ricerca delle cause della sindrome è sempre più al centro del dibattito scientifico. È comunque stata trovata un'associazione diretta e indiretta con l'esposizione agli ftalati (riportata nelle concentrazioni dei metaboliti nell'urina sia delle donne in gravidanza, sia dei bambini con autismo) (Jeddi, et al., 2016).

3. Il progetto *Life-MILCH*

Il progetto Life MILCH “*Mother and Infant dyads: Lowering the impact of endocrine disrupting Chemicals in milk for a Healthy Life*” ha l’obiettivo di misurare l’esposizione agli inquinanti chimici ad azione endocrina della diade madre-bambino, con il fine ultimo di sviluppare azioni preventive per ridurre l’esposizione e per promuovere lo sviluppo ottimale del bambino. Il progetto rientra nei programmi di finanziamento europeo LIFE, volti alla salvaguardia dell’ambiente e della natura, per ripristinare e migliorare la qualità delle risorse naturali.



Figura 2 Logo di progetto

Il progetto Life-MILCH ha durata quinquennale ed è multicentrico, ossia coinvolge tre centri ospedalieri/di ricerca nelle città di Parma, Reggio Emilia e Cagliari; la scelta di località dislocate in Italia è stata effettuata ipotizzando livelli di esposizione agli IE differenti tra Sardegna e Emilia-Romagna, dovuti principalmente ad un diverso livello di industrializzazione dei territori presi in esame (in Emilia-Romagna sono presenti circa 6500 industrie vs le circa 900 della Sardegna) (Istat, 2014).

La valutazione della presenza degli IE nella coppia madre-bambino avviene dalle ultime fasi della gravidanza fino al primo anno di vita, in particolar modo indagandone la presenza in diverse matrici biologiche (siero materno, sangue cordonale, urina materna e del bambino e latte materno), con lo scopo di assicurare e promuovere la salute della madre e la migliore crescita del bambino.

Per fare ciò il progetto ha stilato degli obiettivi primari che suddividono il disegno di ricerca in quattro fasi. Il primo screening intende valutare i livelli di interferenti

endocrini nei campioni biologici raccolti durante il primo anno di vita del bambino al fine di definire una correlazione tra livelli di esposizione e parametri di sviluppo fisiologico, neuro-comportamentale e riproduttivo del bambino. Sulla base dei risultati ottenuti verrà elaborato un modello di rischio statistico in relazione alle fonti di esposizione, per poi divulgare misure precauzionali mirate alla riduzione dell'esposizione a queste sostanze tramite una campagna di prevenzione, diretta a donne in gravidanza e giovani donne in età riproduttiva (ma anche campagne informative dirette a pediatri di base, ginecologi, personale ospedaliero e ostetrico). Per valutare l'efficacia della campagna di prevenzione, il progetto MILCH prevede un secondo screening della coppia madre-bambino allo scopo di valutare i livelli di esposizione ad IE delle donne che hanno partecipato alla campagna informativa durante la gravidanza e l'allattamento. In ultimo, un terzo screening è previsto a distanza di tempo su un campione limitato di coppie per confermare che ci sia stata un'effettiva riduzione dei livelli di esposizione.

Il fine ultimo del progetto Life MILCH consiste nello sviluppare azioni precauzionali efficaci per ridurre l'esposizione della coppia madre-figlio particolarmente sensibile agli IE, tramite una modificazione nelle abitudini di vita e alimentari, al fine di favorire una migliore qualità della vita e dell'ambiente che circonda la diade.

1° screening della diade madre-bambino (vedi timeline in Appendice)

Il primo screening prevede per la sede di Parma il reclutamento iniziale di 200 coppie madre-bambino, in previsione di ottenere la metà del campione (N=100) a completamento dello studio. Il reclutamento avviene tra la 36° e la 41° settimana di età gestazionale ed ha luogo presso l'Azienda Ospedaliero-Universitaria di Parma, a cui seguono quattro incontri di follow up a 1-3-6-12 mesi di vita del bambino. Il

biomonitoraggio prevede la raccolta di campioni biologici nelle diverse fasi: al reclutamento viene raccolto un campione di urina materna e al parto campioni di sangue



Figura 3 Appuntamenti previsti con la diade madre-bambino

cordonale; negli incontri di follow up con la diade madre-bambino vengono raccolte urina e latte della madre, latte artificiale ove non presente quello materno, e urina del bambino.

Tutti i campioni biologici raccolti vengono analizzati dal laboratorio PeptLab dell'Università di Firenze, dove si effettuano le analisi chimiche sui livelli di IE nei diversi campioni biologici, nel dettaglio di: ftalati (DEHP, MEHP), bisfenolo A (e suoi analoghi BPS, BPF), idrocarburi aromatici policiclici (PAHs), policlorodibenzofurani (PCDFs), diossine e simil-diossine, PFAS, glifosato, parabeni, insetticidi piretroidi e metalli pesanti.

Per indagare quali siano le possibili fonti di rilascio degli IE previsti nell'analisi biologica, nell'ambiente abituale della diade madre-bambino, sono stati costruiti dei questionari che indagano il loro stile di vita e le abitudini alimentari (nel dettaglio nel Capitolo *Materiali e Metodi*). Dalla nascita e ai follow up a 1, 3, 6 e 12 mesi il bambino viene visitato al fine di valutarne i parametri di crescita e sviluppo, specialmente quegli indici che sono potenzialmente influenzati dall'esposizione precoce agli IE (curva di crescita, distanza ano-genitale, aumento ponderale, stadi puberali infantili).

Lo sviluppo neuro-comportamentale del bambino è osservato tramite test specifici per ogni età: il paradigma della preferenza visiva al 1° mese (Macchi Cassia & Turati, 2004); paradigma Face-to-face Still-Face al 3° mese (Tronick, 1978); Fagan Test al 6° mese (Fagan III, 1984); Barrier Task al 12° mese (Goldsmith & Rothbart, 1993). Inoltre, al 6° e al 12° mese viene effettuata anche la valutazione del Neurosviluppo con la scala Bayley-III (Bayley Scales Test III edizione, 2009).

SCOPO DELLA TESI

L'obiettivo di questo lavoro si colloca all'interno del progetto Life MILCH, da cui provengono tutti i dati qui valutati, e intende esplorare le differenze che l'allattamento esclusivo al seno e la nutrizione tramite latte in formula comportano al bambino a 3 mesi dalla nascita, sia da un punto di vista di crescita fisiologica, sia sullo sviluppo socio-emozionale (analizzandone l'emozionalità quando sottoposti in condizione di stress cronico). Nonostante il nutrimento in formula garantisca una crescita sostanziale al neonato, esso non contiene gli stessi nutrienti del latte materno, come ad esempio gli acidi grassi polinsaturi a catena lunga responsabili della modulazione del neurosviluppo e l'acido sialico (presente in grandi quantità nel cervello e associato all'apprendimento) (Isaacs, et al., 2010). Inoltre, l'allattamento artificiale sottrae tempo al gesto affiliativo, di cura e conforto della diade madre-bambino che promuove lo sviluppo emozionale, comportamentale e cognitivo del neonato (Wang, et al., 2003) (Pang, et al., 2020), suggerendo che l'allattamento al seno sia la migliore scelta per garantire al bambino benessere e sviluppo ottimale.

In ultimo, si ipotizza che queste due modalità di nutrire il bambino differiscano per la quantità di contenitori in plastica usati per il nutrimento; e un'ulteriore ipotesi a riguardo è che questi possano essere influenzati da differenti livelli di Interferenti Endocrini (quest'ultimo aspetto non verrà analizzato in questo elaborato di tesi). Sebbene siano stati rilevati dei livelli di contaminazione anche nel latte materno (Chao, et al., 2007), l'allattamento non esclusivo al seno comporta che il neonato venga nutrito con latte in formula, il quale passa attraverso lavorazioni industriali del latte, oltre a contenitori e biberon o tazze per neonati (sui quali ad esempio non sempre è presente la dicitura BPA-free).

Lo sviluppo socio-emozionale osservato nelle risposte emozionali durante il paradigma Face-to-Face Still-Face è stato valutato con l'ipotesi che ci siano differenze per genere, e nello specifico che, come è emerso dalla letteratura, le risposte differiscano in base al sesso nelle fasi di Still-Face e di Reunion, maggiormente in seguito alla reiterazione dell'assenza emotiva materna (DiCorcia, et al, 2016).

MATERIALI E METODI

1. Campione

La popolazione di ricerca comprende N=185 donne reclutate tra la 36° e la 41° settimana di gestazione per il progetto di ricerca LifeMILCH; i dati sono stati raccolti a partire da aprile fino a novembre 2021. Il campione in oggetto di questo lavoro è composto da 86 coppie madre-bambino, secondo il criterio d'inclusione che la diade abbia partecipato all'appuntamento di follow up al compimento del terzo mese di vita del bambino, e di cui sono state raccolte tutte le informazioni (Visite Neonatologiche e Questionari) ai follow up del primo e del terzo mese. Il campione è composto di 40 bambine femmine e 46 bambini maschi.

Il campione considerato per il paradigma Face-to-Face Still-Face è invece composto da una sottocategoria di 26 bambini (10 femmine e 16 maschi), rappresentata da coloro che rispettavano i criteri di inclusione riportati nel Capitolo 7.

2. Strumenti

| | Informazioni sulla madre | Informazioni sul bambino |
|-----------|---------------------------------|---------------------------------|
| T0 | Q1 | Scheda neonatologica |
| | Q2 | |
| T1 | Q1 | Q3 |
| | Q2 | Scheda neonatologica |
| T2 | Q1 | Q3 |
| | Q2 | Scheda neonatologica |

Tabella 1 Strumenti utilizzati per la raccolta delle informazioni sulla diade madre- bambino al reclutamento-parto (T0), al primo mese (T1) e al secondo mese di vita del bambino (T2)

1. Somministrazione dei questionari T0

I questionari sono stati costruiti per individuare le possibili fonti di rilascio degli IE con cui siamo quotidianamente a contatto. I due questionari somministrati si riferiscono agli ultimi 6 mesi, ad eccezione di alcune domande riferite alle ultime 48h.

Sono stati somministrati online con l'assistenza di un componente dello staff del progetto, tramite Google Form nella modalità di domande-filtro affiancabili a quelle obbligatorie; questa tipologia di e-survey consente di ricevere tutte le risposte necessarie e non si utilizza carta stampata, in linea con una politica eco-friendly.

Il primo questionario (Q1) raccoglie informazioni sullo stile di vita della donna, nello specifico:

- dati personali e demografici;
- dati sulla salute e sull'attuale gravidanza;
- dati sullo stile di vita e le abitudini attuali e pregresse;
- dati sull'ambiente lavorativo e domestico;
- dati sulle attività sportive e sull'attività in cucina.

Le abitudini per la cura personale del corpo comprendono l'utilizzo di: creme (viso, corpo, mani, labbra), prodotti per la cura dei capelli (shampoo, balsamo, lacca, tinte, olio per capelli), per l'igiene orale (dentifricio, collutorio, filo interdentale), make up del viso (struccante, fondotinta, correttore, matita per labbra, matita per occhi, ombretto, mascara, eyeliner, rossetto), per il corpo (sapone, deodorante, profumo, bagnoschiuma, prodotti per l'igiene intima, creme solari, smalto per unghie).

Le domande sull'abbigliamento indagano la frequenza con cui la donna indossa: materiale sintetico, tecnico o in viscosa, e accessori quali oggetti di gioielleria, occhiali da vista, da sole o lenti a contatto.

Nella categoria "ambiente domestico e lavorativo" è richiesto di specificare l'utilizzo di prodotti per la cura dell'ambiente (detersivo per il bucato, ammorbidente, detersivo per stoviglie, detergente per sanitari, cucina e disinfettanti superfici), se utilizza guanti e il materiale; se nell'ambiente sono presenti insetticidi, lozioni antizanzare o elettroemanatori; inoltre è chiesto di specificare se nella sua occupazione utilizza/va strumenti elettronici quali la cassa emettitrice di scontrini termini. È indagato il materiale di cui è composto il materasso e se è presente PVC negli ambienti che frequenta abitualmente.

Infine, sono indagate le sue attività in cucina: uso di piatti/bicchieri/posate di plastica, contenitori di plastica per la conservazione, pellicola trasparente per confezionamento; se consuma cibi preconfezionati o da asporto; se utilizza il forno a microonde; contenitori e il loro materiale, e pentole rivestite in teflon.

I questionari Q1 nei tempi T0, T1 e T2 sono stati lavorati attribuendo un punteggio numerico alle risposte indicanti la frequenza di utilizzo di un prodotto in variabili categoriali, assegnato come indicato negli esempi riportati nella Tabella 2.

| | |
|--------------------------------|--------|
| No | 0 |
| Sì | 1 |
| Non so | Non so |
| No | 0 |
| Sì, una volta a settimana | 1 |
| Sì, due/tre volte a settimana | 2 |
| Sì, una volta al giorno | 3 |
| Sì, due/tre volte al giorno | 4 |
| Mai | 0 |
| Talvolta | 1 |
| Spesso | 2 |
| Sempre | 3 |
| Lattice | 0 |
| Molle, memory foam, schiuma | 1 |

Tabella 2 Criteri di assegnazione del punteggio alle relative frequenze

Il secondo questionario (Q2) è un'indagine mirata a conoscere le abitudini alimentari della donna e la frequenza di consumo di alcune categorie di alimenti, nello specifico:

- latte di origine animale/vegetale,
- uova,
- formaggi e latticini,
- cereali,
- ortaggi e frutta,

-grassi di origine vegetale/animale

- alimenti a base di soia

- carne e pesce,

- condimenti, salse e sughi pronti

-snack dolci e salati,

-bevande,

- alimenti surgelati.

Per ogni alimento è richiesto alla donna di specificare se di origine biologica o meno, il tipo di confezione in cui è contenuto, la frequenza e la quantità per porzione.

Al termine del reclutamento è stato consegnato un'appendice del Questionario1 (Q1- APPENDICE PRODOTTI) in cui sono raccolte le informazioni riguardanti le marche e la confezione (*plastica, vetro, altro*) e la frequenza di utilizzo dei prodotti (dati che non verranno utilizzati ai fini di questo elaborato di tesi).

2. Visita Neonatologica T0

Questa raccoglie informazioni relative ai genitori e al neonato:

- Dei genitori: età, altezza, peso della madre a inizio gravidanza e peso alla fine (da cui si ricava il BMI pre e post gravidanza) e peso attuale del padre;

- Del neonato:

o lunghezza (cm), peso (g), circonferenza cranica (cm), circonferenza dell'addome (cm);

- età gestazionale (in settimane), punteggio APGAR (da 0 a 10) ai minuti 1, 5, 10, la

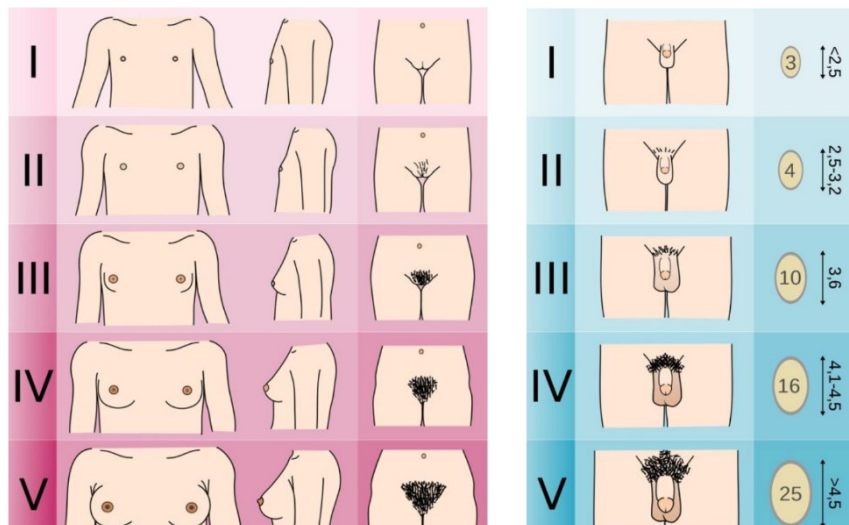


Figura 4 Stadi puberali di Tanner

modalità del parto (spontaneo, Taglio Cesareo elettivo, Taglio Cesareo urgente);

- stadi puberali secondo i criteri di Tanner: peli ascellari SP-A (da 1 a 3), del pubarca SP-P (da 1 a 5) e dei bottoni mammari SP-Bdx e SP-Bsx (da 1 a 5) (Figura 4, Tabella 3);

| | SP-A | SP-P | SP-B (dx/sx) |
|----------|------------------------------|------------------------------------|---------------------------------|
| 1 | assenza di peluria ascellare | assenza di peli pubici | assenza sviluppo mammario |
| 2 | pochi peli | peli sottili e chiari | bottoni mammari |
| 3 | peli folti | peli più scuri, fitti, ricciuti | ingrossamento mammelle e areola |
| 4 | | peli di tipo adulto, non estesi | areola e capezzolo sporgenti |
| 5 | | pelo adulto per quantità e qualità | mammella adulta |

Tabella 3 Stadi puberali di Tanner (Costantini & Calistri, 2013)

- distanza ano-genitale (Figura 5):
 - AGD nei maschi: AGD_{ap} è misurata dal centro dell'ano all'inserzione cefalica del pene e AGD_{as} è misurata dal centro dell'ano alla base posteriore dello scroto.

- AGD nelle femmine: AGD_{ac} è misurata dal centro dell'ano alla punta anteriore del prepuzio clitorideo e AGD_{af} è misurato dal centro dell'ano alla base della commessura labiale posteriore

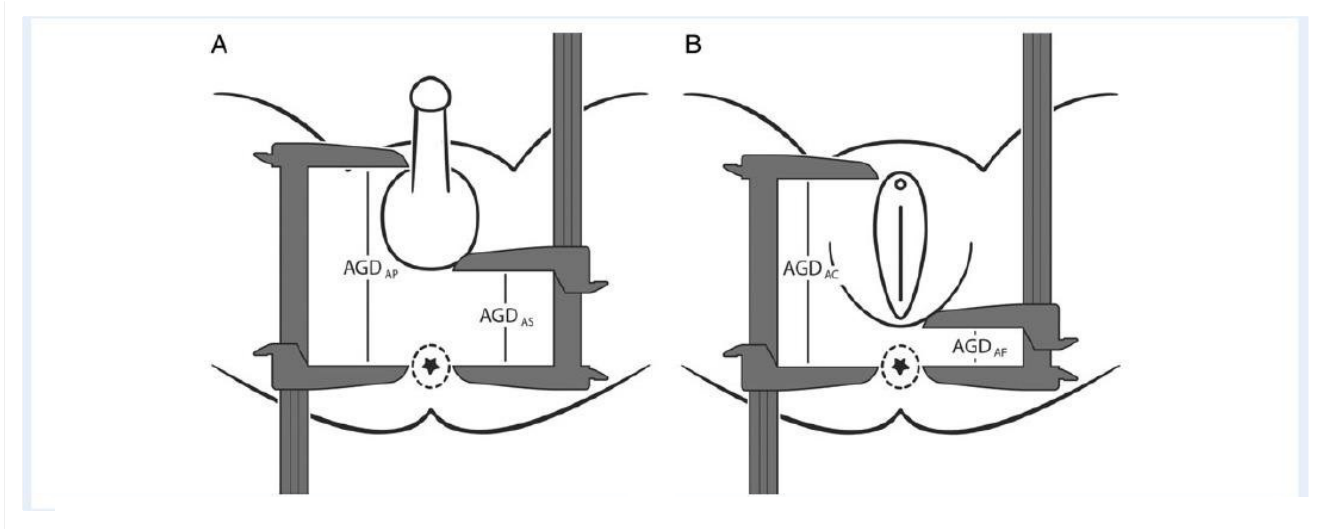


Figura 5 Punti di riferimento per misurare la distanza ano-genitale nei due sessi (Swan, et al., 2015)

- Caratteristiche dei genitali:
 - Femminili: presenza di sanguinamento (crisi genitale); caratteristiche dei genitali esterni di particolare interesse (ipertrofia del clitoride, imene imperforato, ecc.);
 - Maschili: lunghezza del pene (cm), localizzazione dei testicoli (in sede scrotale, inguinale, non palpabile), volume testicolare (in ml) misurato tramite orchidometro di Prader. Presenza di idrocele (minimo, medio, grave), ipospadia o iperpigmentazione dello scroto.

Durante la visita è stato raccolto un campione di urina del bambino tramite metodo non invasivo, ossia cogliendo il momento oppure apponendo un batuffolo di cotone nel pannolino. Alle dimissioni, alla madre sono stati consegnati due contenitori appositi di

progetto e le istruzioni per la raccolta dell'urina materna e del latte materno, da riconsegnare al primo follow up.

3. Somministrazione dei questionari T1

Alla madre è stato chiesto di compilare il questionario Q1 e Q2 ridotti delle informazioni già ottenute nella fase di reclutamento, e ora riguardanti lo stile di vita e le abitudini alimentari dell'ultimo mese (in seguito alla nascita del bambino).

Infine, alla mamma viene somministrato un questionario Q3 (Questionario MADRE PER FIGLIO/A) il quale si riferisce al primo mese di vita del neonato e raccoglie le informazioni del bambino riguardo:

- dati personali e stato di salute;
- abitudini nell'allattamento;
- contenitori utilizzati per il nutrimento/ preparazione/ contenimento del latte;
- latte artificiale e specificità di utilizzo;
- abbigliamento, stile di vita e abitudini del bambino.

Ai fini della ricerca presentata, sono di rilevanza le informazioni della sezione "Allattamento" che indagano nel particolare:

- se esclusivo al seno o no, se allatta a domanda del bambino oppure a orario, se utilizza un cuscino per l'allattamento e il materiale di cui è composto;
- utilizzo del biberon, presenza della dicitura BPA free e se viene lavato in lavastoviglie;
- utilizzo e frequenza giornaliera del tiralatte, materiale dei contenitori del latte e se utilizza gli stessi per riscaldarlo;

- utilizzo del latte artificiale, la marca, se in latte o in polvere, la quantità in ml e il materiale dei contenitori; se viene riscaldato nel microonde, e a quale potenza, oppure nel biberon o a bagnomaria; se la preparazione contiene acqua di rubinetto, confezionata in bottiglie di plastica o vetro/alluminio/porcellana o altro;
- utilizzo di latte non artificiale e le stesse domande accessorie del punto precedente;
- assunzione di liquidi diversi dal latte tramite biberon, e se ricorre al ciuccio (specificando se di caucciù, silicone o plastica).

Nella sezione “Stile di vita e abitudini” si chiede la frequenza con cui suo/a figlio/a indossa abbigliamento e intimo sintetico, tecnico, in lana, cotone, viscosa o seta; di quale composizione sono costituiti gli oggetti con cui è maggiormente a contatto: coperta, sacco copri bebè, ovetto, carrozzina, fasciatoio, materasso. Le indagini comprendono i prodotti per la cura e l’igiene del bambino, utilizzo di pannolini usa e getta o di cotone riutilizzabili.

I questionari Q3 nei tempi T1 e T2 sono stati lavorati attribuendo un punteggio numerico alle risposte indicanti la frequenza di utilizzo di un prodotto in variabili

categoriali, assegnato come indicato negli esempi riportati in tabella 4.

| | |
|-----------------------------------|-----|
| No | 0 |
| Sì | 1 |
| Non so | 0,5 |
| Sì, occasionalmente | 1 |
| Sì, abitualmente | 2 |
| Sì, una volta a settimana | 1 |
| Sì, due/tre volte a settimana | 2 |
| Sì, una volta al giorno | 3 |
| Sì, due/tre volte al giorno | 4 |
| Mai | 0 |
| Talvolta | 1 |
| Spesso | 2 |
| Sempre | 3 |
| Lattice, semi naturali, cotone | 0 |
| Poliestere, memory foam, schiuma | 1 |
| Contenitore in vetro | 0,5 |
| Biberon senza BPA | 1 |
| Biberon in plastica | 2 |
| BPA free: Sì | 0 |
| BPA free: No | 1 |
| Non risposta | NA |
| Potenza Microonde: 400-600 watt | 1 |
| Potenza Microonde: 600-800 watt | 2 |
| Potenza Microonde: oltre 800 watt | 3 |

Tabella 4 Criteri di assegnazione dei punteggi

4. Visita neonatologica T1

La visita neonatologica è stata effettuata dalla neonatologa e raccoglie:

- parametri di crescita standard: lunghezza in posizione supina (cm), circonferenza cranica (cm), dimensione della fontanella (cm), peso (g) senza pannolino, mediante bilancia analogica;

- parametri di crescita aggiuntivi: stadi puberali secondo il criterio di Tanner (Figura 4, Tabella 1), distanza ano-genitale (Figura 5);
- Caratteristiche dei genitali:
 - Femminili: presenza di sanguinamento (crisi genitale); e altre caratteristiche genitali esterni di rilievo (ad esempio ipertrofia del clitoride, imene imperforato);
 - Maschili: lunghezza del pene (cm), localizzazione dei testicoli (in sede scrotale, inguinale, non palpabile), volume testicolare (in ml) misurato tramite orchidometro di Prader. Presenza di idrocele (minimo, medio, grave), ipospadia o iperpigmentazione dello scroto.

5. Somministrazione questionari T2

Alla madre vengono somministrati gli stessi questionari presentati al 1° mese (Q1, Q2, Q3) riguardanti lo stile di vita (Q1), le abitudini alimentari (Q2) e le abitudini del bambino (Q3) degli ultimi due mesi dal primo follow up.

6. Visita neonatologica

Il bambino viene sottoposto alla visita neonatologica durante la quale vengono valutati:

- parametri di crescita standard (vedi visita neonatologica T1);
- parametri di crescita aggiuntivi (vedi visita neonatologica T1);
- caratteristiche dei genitali maschili e femminili (vedi visita neonatologica T1).

7. Paradigma Face-to-Face Still Face

Al terzo mese la diade madre-bambino viene coinvolta nello svolgimento del paradigma Face-to-face Still-Face (FFSF). Anche chiamato “paradigma del volto immobile”, è stato ideato da Tronick nel 1978 per osservare la risposta socio-emozionale del bambino di fronte a un fattore stressante dato dall’assenza comunicativa materna (Montirosso, et

al., 2016). Questa tipologia di stress a cui è sottoposto il neonato generalmente comporta un aumento dell'emozionalità negativa e dei livelli di cortisolo (indice di reattività dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene). Tra i risultati degli studi è emerso che i figli di genitori più responsivi mostrano maggiore regolazione emotiva (in termini di regolazione del battito cardiaco e dell'emozionalità negativa), rispetto ai figli di genitori non responsivi (Haley & Stansbury, 2003).

La procedura è stata svolta durante il follow up del terzo mese, nella stessa stanza in cui è stata svolta la visita neonatologica, ponendo il bambino nel passeggino di fronte alla madre, in modo che i due avessero la possibilità di poter interagire comodamente. Il paradigma FFSF si compone di 5 fasi da 2 minuti ciascuna, scandite da un segnale acustico dato dallo sperimentatore, per una durata complessiva di 10 minuti.

Le cinque fasi sono così suddivise:

1° fase: "Play"- 2 minuti

2° fase: "Still-face" - 2 minuti

3° fase: "Reunion" - 2 minuti

4° fase: "Still-face" - 2 minuti

5° fase: "Reunion" - 2 minuti

Nelle fasi "Play" e "Reunion" la madre aveva il compito di interagire con il proprio bambino, ma senza l'utilizzo di giochi o oggetti esterni e senza l'uso del ciuccio. Durante le fasi "Still-face" la madre aveva il compito di interrompere qualsiasi tipo di comunicazione verbale e non verbale con il bambino (Figura 6).



*Figura 6 sopra: Madre durante la fase di Play/Reunion sotto: Madre durante fase Still Face
Foto tratta dalle registrazioni della procedura.*

Tutta la procedura è stata registrata per mezzo di due telecamere volte a riprendere in modo indipendente il volto e il mezzo busto della madre, e interamente il bambino. Nel rispetto delle norme anti COVID-19 e per permettere la corretta riuscita del paradigma è stato chiesto alla madre di togliere la mascherina soltanto durante lo svolgimento del test, una volta usciti gli sperimentatori dalla stanza.

La codifica dell'emozionalità nel FSFF

Lo sviluppo socio-emozionale è stato misurato in termini di risposta emozionale del bambino durante l'interazione madre-bambino in ogni fase della procedura, mediante il software ELAN 5.9. È stata eseguita una codifica di tipo microanalitico di 2 secondi, secondo quanto previsto dal manuale Parent-Infant Coding System (Brambilla, Grumi,

Pettenati, & Provenzi, 2021). L'emozionalità del bambino, espressa tramite espressioni facciali, movimenti del corpo, vocalizzazioni e/o comunicazione non verbale è stata valutata attribuendo un diverso punteggio a seconda dello stato emozionale: positivo, negativo e neutro.

- Punteggio “1”: emozione negativa espressa tramite espressioni facciali e movimenti del corpo, comunicazione non verbale (pianti, urla, agitazione, stress) (Figura 9);
- Punteggio “2”: emozioni neutre, ossia quelle modalità che non sono né emozioni chiaramente positive né negative, come per esempio quando il bambino è calmo e rilassato (Figura 10);
- Punteggio “3” emozione positiva, espressa dal bambino tramite movimenti di occhi, bocca, vocalizzazioni e in generale chiari segnali del linguaggio del corpo (Figura 8);
- Punteggio “0”: l'impossibilità della codifica, e i casi in cui la visione parziale del viso del bambino non permette di distinguerne l'emozionalità. Si utilizza lo 0 anche per quei casi in cui l'espressione emotiva del bambino non è chiaramente discriminabile (per problemi tecnici) (Figura 7).



Figura 7 Caso di attribuzione del punteggio "0". Foto tratta dalle registrazioni della procedura.



Figura 8 Emozionalità positiva "3" del bambino. Foto tratta dalle registrazioni della procedura.



Figura 9 Emozionalità negativa "1" del soggetto. Foto tratta dalle registrazioni della procedura.



Figura 10 Emozionalità neutra "2" del soggetto. Foto tratta dalle registrazioni della procedura.

Ogni categoria è mutualmente esclusiva. Nel caso in cui all'interno di uno stesso intervallo si siano verificati due diversi tipo di emozionalità (positiva e negativa), è stato attribuito il punteggio dell'emozionalità prevalente per durata, fatta eccezione per la co-presenza di emozionalità negativa/positiva e neutra, dove il punteggio è stato attribuito all'emozionalità.

In seguito alla codifica microanalitica dei video, per ogni soggetto si è ottenuta la percentuale di tempo trascorso dal bambino nelle differenti emozionalità all'interno di ogni fase.

Ai fini di questo lavoro di tesi sono stati selezionati dal campione di riferimento 26 soggetti (10 femmine e 16 maschi) del totale che hanno svolto il test di sviluppo socio-emozionale. Sono stati inclusi coloro che:

- hanno svolto il test nel passeggino/ovetto, nella giusta posizione (sono stati esclusi i bambini in braccio alla madre o che hanno svolto il test sul fasciatoio dell'ambulatorio);
- le cui madri hanno mostrato aderenza al compito illustrato dalla psicologa;
- non hanno utilizzato/ sono stati intrattenuti con oggetti, quali giochi o ciuccio;
- presentavano uno stato di emozionalità negativa già prima dell'inizio del test;
- hanno svolto il test in tutte le sue fasi per un totale di 10 minuti;
- non erano parte dello studio-pilota (i primi 15 soggetti partecipanti al progetto).

Il campione non risulta essere bilanciato in termini di tipologia di allattamento (5 nutriti con latte artificiale, 21 allattati esclusivamente al seno).

Analisi statistica

I dati dei questionari sono stati analizzati tramite t.test per rispondere all'ipotesi riguardo la possibilità di individuare differenze significative nel campione tra i due gruppi latte materno e latte artificiale, effettuando un confronto tra medie, ponendo la significatività per p-value <0,05 ed osservando gli indicatori di effect size.

I dati dei parametri di crescita raccolti tramite schede neonatologiche sono stati analizzati usando effettuando l'ANOVA in cui il fattore Within è rappresentato dal Tempo ed il fattore Between dal diverso gruppo di appartenenza (latte artificiale e latte materno) per osservare l'effetto della tipologia dell'allattamento sulla crescita corporea, la lunghezza, la circonferenza cranica. Per quanto riguarda l'analisi della AGD è stata effettuata separata per sesso a causa delle differenze anatomiche intrinseche alla misura ano-genitale, ed è stata effettuata un ANOVA (tempo*tipologia di allattamento) per osservarne la significatività; l'effect size è dato come partial eta-squared, poiché questo indice non risente della grandezza del campione.

Le risposte socioemozionali ottenute dal paradigma FFSF sono state analizzate tramite ANOVA fattoriale (fase*sesso) per osservare l'effetto del sesso sulle fasi del paradigma. Nei casi in cui l'ANOVA sia statisticamente significativa, è stata condotta l'analisi a post-hoc per confronti multipli tramite il test HSD di Tukey. I dati sono stati analizzati mediante *Statistica 12* (Stat-Soft, Tulsa, USA).

3. Procedura

Tutte le procedure previste nel progetto LifeMILCH sono state approvate dal Comitato Etico dell'Area Vasta Emilia Nord. Il protocollo è stato scritto in accordo ai principi etici della Dichiarazione di Helsinki e ICH Harmonized Tripartite Guideline for Good Clinical Practice.

1. Reclutamento

Lo staff di progetto si è occupato del reclutamento delle donne in gravidanza, avvenuto presso gli ambulatori del reparto Maternità dell’Azienda Ospedaliero-Universitaria di Parma, in concomitanza alla Presa in Carico delle donne all’ultimo trimestre di gravidanza. In questa fase preliminare è stato coinvolto il personale ospedaliero/ostetrico, che si è occupato della pre-selezione delle donne escludendo coloro che presentano: i) diabete gestazionale, ii) ipertensione, iii) iperclampsia, iv) malattie croniche o genetiche, v) indicazione medica o espressa volontà individuale di inibire l’allattamento, vi) presenza di diagnosi di anomalie fetali, vii) adeguata comprensione dello studio. Successivamente il personale di progetto ha illustrato lo scopo generale e le finalità della ricerca MILCH. Alle donne che hanno liberamente aderito allo studio è stato richiesto di firmare una copia del consenso informato e l’informativa sulla privacy. Alle donne sono stati consegnati gadget e cartella del progetto, al cui interno sono stati riposti la copia del consenso informato, il foglio informativo e la lettera da consegnare facoltativamente al medico di medicina generale (per informarlo della partecipazione al progetto), come previsto da protocollo etico. Al fine di garantire l’anonimato ad ogni donna è stato assegnato un codice identificativo della (futura) diade, utilizzato per tutti i successivi incontri. Nella fase di reclutamento sono stati raccolti dati anagrafici e di residenza, è stato consegnato un apposito contenitore per la raccolta delle urine e prelevato il primo campione di urina materna; sono stati poi somministrati i questionari relativi ai propri stili di vita e abitudini alimentari riferiti agli ultimi 6 mesi e 48 ore.

2. Parto-Nascita (T0)

Al momento del parto è stato prelevato il campione di sangue cordonale da parte del personale ostetrico e sono stati raccolti i dati delle schede CEDAP relativi a dati clinici

del parto, modalità del parto, età gestazionale e presenza di eventuali complicanze. Entro il primo giorno di vita del neonato è stata effettuata la prima visita neonatologica compilando la “Scheda Visita Neonatologica T0”.

3. Primo mese (T1)

Al primo mese di vita è stato effettuato il primo follow up della diade madre-bambino. L’incontro è stato svolto a ± 3 giorni dal compimento del primo mese e ha previsto:

1. firma da parte della madre del consenso e dell’informativa al trattamento dati relativi al minore, consegna alla madre di copia del consenso, informativa dello studio sul minore e lettera per il pediatra di libera scelta;
2. visita neonatologica del neonato;
3. somministrazione alla madre di questionari relativi ai propri stili di vita e abitudini alimentari delle 4 settimane dopo il parto e delle ultime 48 ore;
4. somministrazione alla madre del questionario relativo al primo mese di vita e le ultime 48 ore del bambino;
5. raccolta dei campioni biologici: urina e latte materno (quest’ultimo se non raccolto in casa, è stato prelevato in loco tramite spremitura manuale o con l’utilizzo del tiralatte elettrico Medela), urina del bambino. Se la madre non allatta, è stato richiesto un campione di latte artificiale;
6. somministrazione del paradigma della preferenza visiva;
7. consegna dei contenitori e istruzioni per la raccolta di urina e latte materno, per il secondo follow up a 3 mesi.

4. Terzo mese (T2)

Al compimento del terzo mese \pm 7 giorni del bambino è stata svolto il secondo follow up con la diade madre-bambino, che ha previsto:

1. visita neonatologica;
2. raccolta dei campioni biologici: urina e latte materno (quest'ultimo se non raccolto in casa, avviene in loco tramite spremitura manuale o con l'utilizzo del tiralatte elettrico Medela), urina del bambino; se la madre non allatta è stato richiesto un campione di latte artificiale;
3. somministrazione alla madre dei questionari relativi ai propri stili di vita e abitudini alimentari delle 4 settimane dopo il parto e delle ultime 48 ore;
4. somministrazione alla madre del questionario relativo agli ultimi due mesi di vita e le ultime 48 ore del bambino (stili di vita, abitudini alimentari);
5. somministrazione del paradigma Face-to-Face Still Face (FFSF).

RISULTATI

1. Analisi descrittiva delle MADRI

Dati personali e sociodemografici

Il campione comprende donne reclutate tra i 19 e i 44 anni, con un'età media di 33. Il 50% delle donne ha un'età compresa tra 30 e 36 anni.

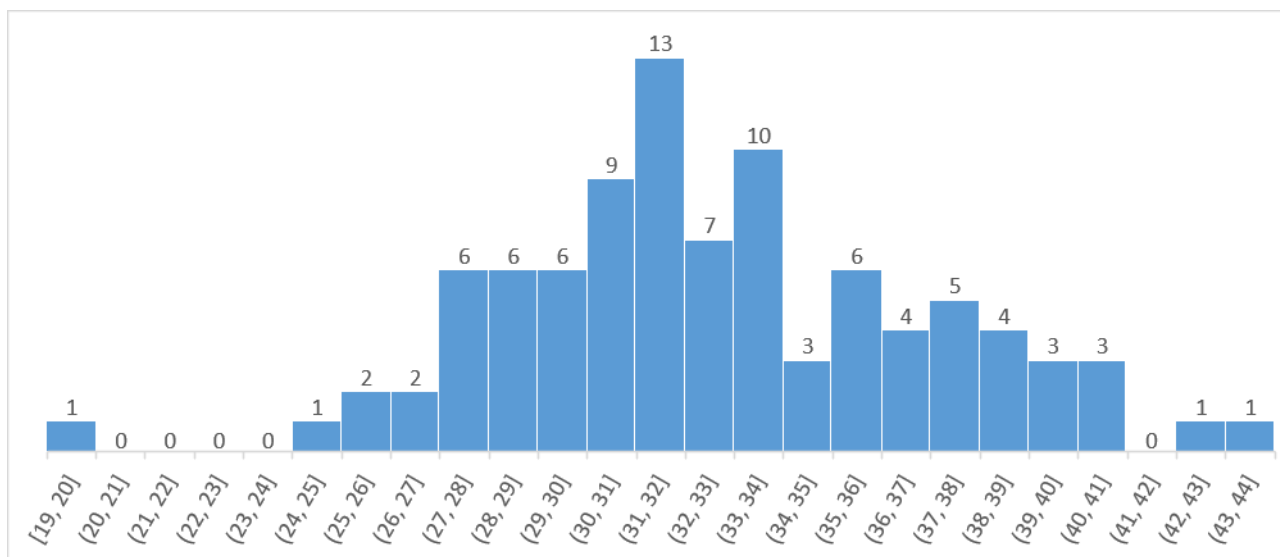


Grafico 1 Distribuzione della frequenza delle donne per età

Peso (BMI¹): L'indice BMI minimo rilevato è di 16,9 kg/m², mentre il massimo è 35,4 kg/m². Il 71% del campione rientra nel range delle "normopeso". L'indice medio BMI prima del parto è di 23 punti, ossia entro la categoria "normopeso", con una deviazione standard di 3.5 punti. L'indice medio BMI alla fine della gravidanza è di 27,65 ± 1,16 kg/m²; il minimo è 21,87 kg/m² e il massimo 38,87 kg/m².

¹ L'indice BMI (body mass index) tra 16 e 18,49 è indicativo di una condizione di "sottopeso", BMI compreso tra 18,50 e 24,99 è "normopeso", BMI tra 25,00 a 29,99 è "sovrappeso", oltre i 30 indica obesità.

Stile di vita e abitudini attuali e pregresse

Sono stati indagati titolo di studio e occupazione. 70 donne erano laureate, 18 diplomate e 4 avevano ottenuto la licenza media o inferiore. 68 donne erano impiegate come dipendenti, 12 erano lavoratrici autonome, 1 studiava e 12 erano casalinghe.

I dati sul loro stato di salute riportano 18 donne con ovaio policistico, 2 con pregressi di obesità infantile e poi obesità adolescenziale e 1 donna soffriva di endometriosi.

Alle donne è chiesto di esprimere un'auto-valutazione fisica e una psicologica riguardo la gravidanza: alla domanda "Da 1 (pessima) a 10 (ottima) come valuta la sua salute FISICA durante la gravidanza?" la risposta in media è stata di $8,3 \pm \text{sem}0,2$; alla domanda "Da 1 (pessima) a 10 (ottima) come valuta la sua salute PSICOLOGICA durante la gravidanza?" la risposta in media è stata di $8,2 \pm \text{sem}0,1$. Nei 6 mesi precedenti la compilazione del questionario 6 donne avevano riportato di avere avuto l'infezione da COVID-19, mentre 18 avevano lamentato stanchezza eccessiva.

51 donne non erano fumatrici, mentre 13 avevano smesso durante la gravidanza, le restanti donne (27) avevano smesso da più di un anno. 12 donne riferivano di essere esposte a fumo passivo.

2 donne avevano indicato la ICSI (IntraCytoplasmic Sperm Injection, ossia iniezione intracitoplasmatica dello spermatozoome) come tecnica di procreazione assistita, e una la PMA eterologa con ovodonazione (Procreazione Medicalmente Assistita).

Questionario Q1

Il questionario Q1 raccoglie i dati personali e demografici della donna, informazioni sulla sua salute e la gravidanza. Indaga lo stile di vita della donna tramite domande in

cui è richiesto di specificare la frequenza di utilizzo di prodotti appartenenti alle seguenti quattro categorie: cura personale del corpo, abbigliamento, ambiente domestico e lavorativo, e attività in cucina.

1.1 Analisi dei dati del questionario Q1

Cura del corpo

La media dei punteggi ricavati dalla frequenza di utilizzo di questi prodotti è di 1.59, con deviazione standard pari a 0.39 con un livello max di 2.48 e min di 0.86, a significare che il campione di riferimento ne fa un utilizzo uniforme all'interno del gruppo, senza mostrare evidenti differenze nella quantità e la frequenza di utilizzo di prodotti per la cura personale.

Abbigliamento

La media dei punteggi ricevuti nella sezione che indaga l'abbigliamento e gli accessori è di 0,76, con una deviazione standard di $\pm 0,29$ e punteggio medio minimo 0,14 e il massimo 1,37.

Ambiente domestico

La media dei punteggi ottenuti sulle domande riguardo l'ambiente domestico in cui vive la donna è di $1,33 \pm sd 0,36$, con un minimo di 0,5 e un massimo di 2,4.

Attività in cucina

Le indagini circa le abitudini del campione nell'attività in cucina mostrano una media $0,95 \pm sd 0,32$.

2. Analisi descrittiva dei BAMBINI

1. Questionario Q3

Tra le informazioni riguardanti lo stato di salute dei bambini non si notano differenze tra le medie, come atteso dato che sono tutti bambini sani, i quali assumono nella quasi totalità dei casi integratori e vitamine (N=82). Nell'intero campione, 3 bambini hanno subito interventi o trattamenti medici durante i quali sono stati intubati o gli è stato applicato un dispositivo medico (flebo, sondino, catetere, drenaggio), in media 3 giorni l'uno. 11 bambini hanno preso farmaci. Alla domanda: "Su una scala da 0 (estremamente tranquillo/a) a 10 (estremamente agitato/a), come descriverebbe, in media, il suo bambino / la sua bambina?" le madri rispondono in media= 5.

Le domande circa le abitudini nell'allattamento chiedono alla madre informazioni riguardo l'allattamento esclusivo al seno (Sì/No), la media del numero di volte in cui si allatta al seno, l'utilizzo di paracapezzoli, l'uso del cuscino per l'allattamento e il materiale di cui è composto.

Nella categoria dei "Contenitori" è indagato l'utilizzo del biberon, la presenza della dicitura "BPA-free" e se viene lavato in lavastoviglie; l'utilizzo del tiralatte, la frequenza di utilizzo e la modalità di conservazione del latte materno prelevato. Inoltre, è chiesta la modalità attraverso cui il latte viene riscaldato.

Tra le domande che riguardano coloro che non allattano esclusivamente al seno è richiesto di specificare la frequenza con cui il bambino viene nutrito di latte in formula, la modalità di conservazione dello stesso e se gli stessi contenitori/biberon vengano lavati in lavastoviglie; il modo in cui viene scaldato (bagnomaria, microonde, scaldabiberon, altro) e la potenza/temperatura; infine la tipologia di acqua utilizzata per

la preparazione del latte artificiale e il confezionamento della stessa (in bottiglie di plastica, vetro, proviene dal rubinetto o altro).

Le domande circa l'abbigliamento del bambino riguardano la frequenza con cui è a contatto con abiti e intimo di materiale sintetico, tecnico e/o viscosa. Lo stile di vita del bambino è indagato tramite domande sul materiale di cui sono composti il materasso, la coperta, il sacco copribebè, il coprifasciatoio, il passeggino, la carrozzina, l'ovetto e la palestra. Viene chiesto se il bambino utilizza il ciucco e di specificare il materiale. Sono indagati anche i prodotti per l'igiene del bambino (bagnoschiuma, shampoo, salviettine detergenti umidificate, olio per il corpo, polvere rinfrescante (talco non talco) e la loro frequenza di utilizzo.

Descrizione per gruppi: allattamento esclusivo al seno e allattamento con latte artificiale

I questionari compilati dalla madre per il figlio Q3 sono 86. Il campione è composto da 46 bambini maschi e 40 femmine, di un mese di età.

I bambini che sono allattati esclusivamente al seno sono 56. Il campione dei soggetti si presenta sbilanciato: vi sono 30 soggetti allattati artificialmente (LA) e 56 allattati con latte materno (LM), ovvero il 65% del campione totale.

14 bambini ha iniziato ad assumere latte artificiale nella prima settimana dopo il parto; 9 nella seconda settimana, 1 nella terza e 1 al compimento del mese. I 5 bambini rimanenti si ipotizza abbiano ricevuto la versione precedente del questionario in cui non era presente questa domanda.

1.1 Analisi dei dati del questionario Q3

La prima valutazione fatta è stata l'analisi delle risposte al questionario, compilato dalle madri ad un mese dalla nascita del bambino in relazione alla tipologia di allattamento

(latte materno e latte artificiale). Le variabili considerate sono: salute, contenitori, abitudini nell'allattamento, latte artificiale e abbigliamento (stile di vita) del neonato.

Dopo aver fatto la media di ognuno dei punteggi delle cinque variabili nei due gruppi, è stato confrontato tramite t.test se le medie fossero significativamente diverse tra loro nei due gruppi. Le risposte per le variabili contenitori e abitudini nell'allattamento sono risultate significativamente diverse tra i due gruppi (contenitori $p < 0,001$; abitudini allattamento $p < 0,05$); l'indice d di Cohen di effect size mostra un effetto forte tra le variabili Contenitori, mentre mostra un effetto debole nelle Abitudini durante l'allattamento. Nelle altre variabili non è stata riscontrata alcuna differenza significativa (salute $p = 0,211$; abbigliamento $p = 0,647$), e gli effetti sono rispettivamente debole e trascurabile.

| | Media \pm sem LM | Media \pm sem LA | df | p | Cohen's d | 95% CI | |
|--|-----------------------|-----------------------|----|--------|--------------|-----------|-----------|
| | | | | | | inferiore | superiore |
| Salute | 0,29 \pm 0,02 | 0,31 \pm 0,02 | 29 | 0,258 | 0,211 | -0,153 | 0,571 |
| Abitudini nell'allattamento | 0,97 \pm 0,03 | 0,77 \pm 0,06 | 29 | 0,034 | -0,405 | -0,775 | -0,029 |
| Contenitori | 0,17 \pm 0,04 | 0,49 \pm 0,04 | 29 | <0,001 | 1,091 | 0,631 | 1,539 |
| Abbigliamento | 0,92 \pm 0,04 | 0,97 \pm 0,05 | 29 | 0,647 | 0,085 | -0,275 | 0,442 |
| Latte artificiale | 0 | 0,95 \pm 0,06 | | | | | |

Tabella 5 Differenze significative e non significative tra le medie dei punteggi del questionario Q3. Sono riportati: df=gradi di libertà, p=p-value, Cohen's d=effect size, CI=intervallo di confidenza. I dati sono presentati come medie \pm errore standard.

2. Visite neonatologiche

2.1 Analisi dei dati delle schede neonatologiche

Le variabili di interesse ai fini di questo elaborato di tesi sono i seguenti parametri osservati:

1. peso (g)
2. lunghezza (cm)
3. circonferenza cranica (cm)
4. AGD 1 (distanza anogenitale anteriore in cm)
5. AGD 2 (distanza anogenitale posteriore in cm)

Degli 86 soggetti del campione sono stati esclusi 1 soggetto per il quale non è stata specificata la tipologia di allattamento e 4 di cui non sono stati raccolti correttamente tutti i parametri di crescita. L'analisi statistica è stata condotta su un campione di 81 soggetti, di cui 59 del gruppo LM e 29 del gruppo LA.

2.1.1 Peso

| | LM | LA |
|-----------|------------------|------------------|
| T0 | 3411,9 g ± 44,6 | 3410,5g ± 95,1 |
| T1 | 4518,8 g ± 80,2 | 4282,4 g ± 102,3 |
| T2 | 6310,2 g ± 107,7 | 6137,9 g ± 147,9 |

Tabella 6 Peso medio del gruppo allattato esclusivamente al seno e del gruppo con latte artificiale.

I dati sono mostrati come medie ± errore standard

L'analisi della crescita corporea dei bambini dalla nascita (T0) al terzo mese (T2) ha mostrato che tutti i bambini, indipendentemente dalla tipologia di allattamento, aumentano significativamente il loro peso dalla nascita al terzo mese (tempo: $F_{(2,158)}=977$, $p<0,001$, partial eta squared=0,21) (Tabella 6, Grafico 2).

L'analisi non ha mostrato alcuna differenza tra bambini allattati con latte materno e con latte artificiale.



Grafico 2 Crescita in termini di peso dei bambini allattati esclusivamente al seno e con latte artificiale. I dati sono mostrati come medie \pm errore standard.

2.1.2 Lunghezza

Le misurazioni della lunghezza prese alla nascita, al primo e al terzo mese mostra nei due gruppi LM e LA una diversa lunghezza prevalentemente alla nascita (LM=51,2 cm vs LA=51,1 cm), e minore differenza nella crescita tra un mese e tre mesi.

| | LA | LM |
|----|---------------|---------------|
| T0 | 51,1 cm ± 0,4 | 51,2 cm ± 0,3 |
| T1 | 55,1 cm ± 0,4 | 55,9 cm ± 0,3 |
| T2 | 62,6 cm ± 0,5 | 63,1 cm ± 0,3 |

Tabella 7 Lunghezza media del gruppo allattato esclusivamente al seno e del gruppo con latte artificiale.

I dati sono mostrati come medie ± errore standard

Indipendentemente dalla tipologia di allattamento tutti i bambini crescono significativamente in lunghezza ($F_{(1,154)} = 767,47$, $p < 0,001$, partial eta squared = 0,91), a conferma che il tempo ha un effetto significativo sulla lunghezza corporea dei bambini nei 3 mesi osservati (Tabella 7, Grafico 4), non mostrando alcuna effetto significativo con l'allattamento.

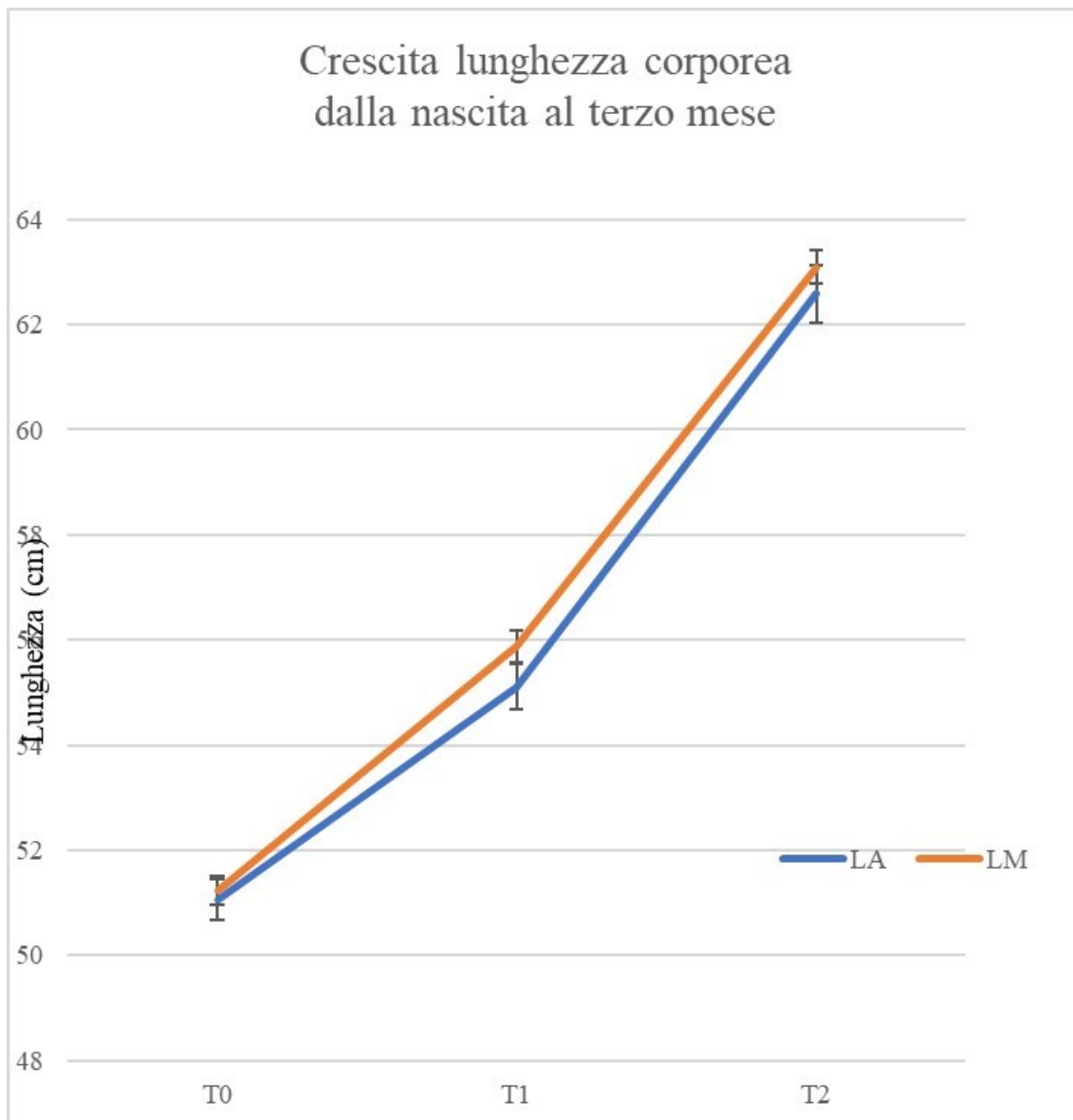


Grafico 4 Crescita in termini di lunghezza dei bambini allattati esclusivamente al seno e con latte artificiale.

I dati sono mostrati come medie \pm errore standard.

2.1.3 Circonferenza cranica

Le misurazioni della circonferenza cranica mostrano nei due gruppi LM e LA una crescita praticamente sovrapponibile nei due gruppi nei tre diversi tempi.

| | LA | LM |
|-----------|-------------------|-------------------|
| T0 | 34,6 cm \pm 0,7 | 34,6 cm \pm 0,2 |
| T1 | 37,6 cm \pm 0,2 | 37,5 cm \pm 0,1 |
| T2 | 40,9 cm \pm 0,2 | 40,6 cm \pm 0,2 |

Tabella 8 Circonferenza cranica media dei gruppi LA e LM.

I dati sono mostrati come medie \pm errore standard

Le dimensioni della circonferenza cranica mostrano, come atteso, un aumento dalla nascita al terzo mese che avviene in tutti i bambini (tempo: $F_{2,154}=874,2$, $p<0,001$, partial eta-squared=0,92) indipendentemente dalla tipologia di allattamento, che non è risultato significativo (Tabella 8, Grafico 5).

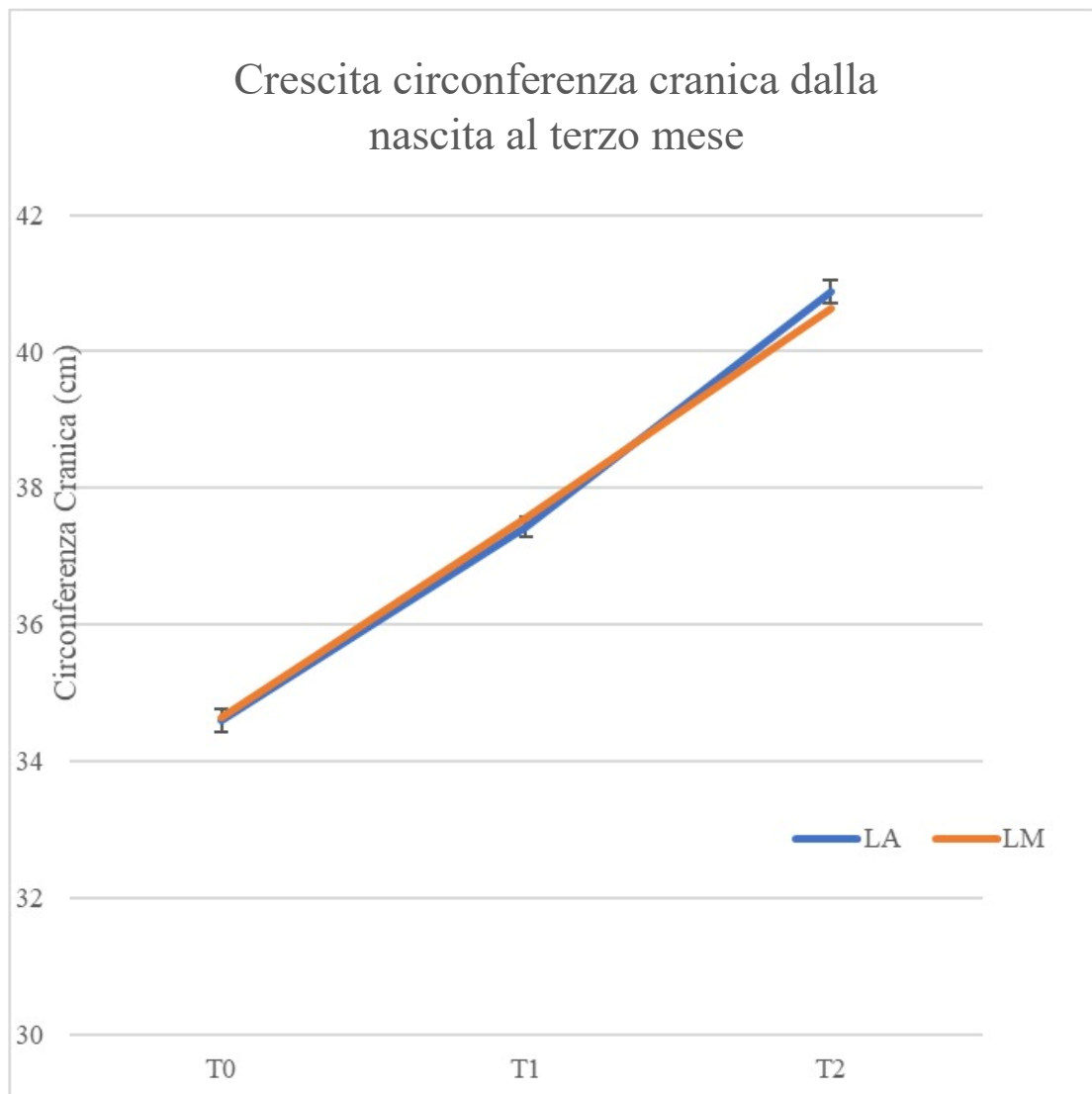


Grafico 5 Crescita della circonferenza cranica dei bambini allattati esclusivamente al seno e con latte artificiale.

I dati sono mostrati come medie \pm errore standard

2.1.4 Distanza ano-genitale

2.1.4.1 Anteriore

L'analisi statistica è stata eseguita separata nei due sessi, per ragioni di diversità anatomica. Sia nei maschi che nelle femmine l'analisi non ha evidenziato alcuna differenza significativa nei gruppi. In entrambi i sessi, le dimensioni della AGD anteriore aumentano con l'aumentare dell'età (Maschi, tempo: $F_{2,82}=47,3$, $p<0,001$, partial eta squared=0,53), (Femmine, tempo: $F_{2,68}=17,741$, $p<0,001$, partial eta squared=0,34) (Grafici 6 e 7).

| | LA | LM |
|-----------|------------------|------------------|
| T0 | 4,7 cm \pm 0,2 | 4,5 cm \pm 0,1 |
| T1 | 5,1 cm \pm 0,1 | 5,1 cm \pm 0,1 |
| T2 | 5,9 cm \pm 0,1 | 5,8 cm \pm 0,1 |

Tabella 10 Distanza ano-genitale anteriore media maschile dei gruppi LA e LM.

I dati sono mostrati come medie \pm errore standard

| | LA | LM |
|-----------|------------------|------------------|
| T0 | 3,6 cm \pm 0,2 | 3,7 cm \pm 0,1 |
| T1 | 3,6 cm \pm 0,1 | 3,7 cm \pm 0,1 |
| T2 | 4,3 cm \pm 0,2 | 4,5 cm \pm 0,1 |

Tabella 11 Distanza ano-genitale anteriore media femminile dei gruppi LA e LM.

I dati sono mostrati come medie \pm errore standard

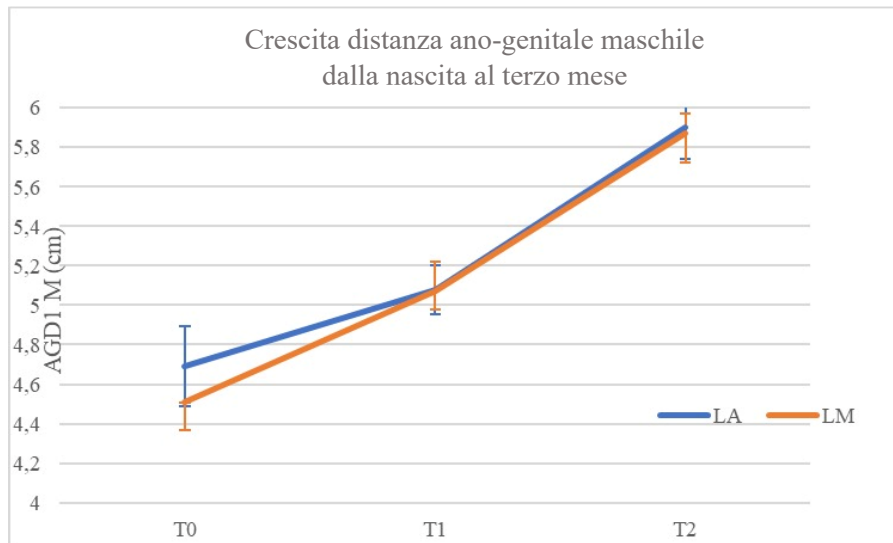


Grafico 6 Crescita della distanza anogenitale anteriore dei maschi nei gruppi LA e LM.

I dati sono mostrati come medie \pm errore standard

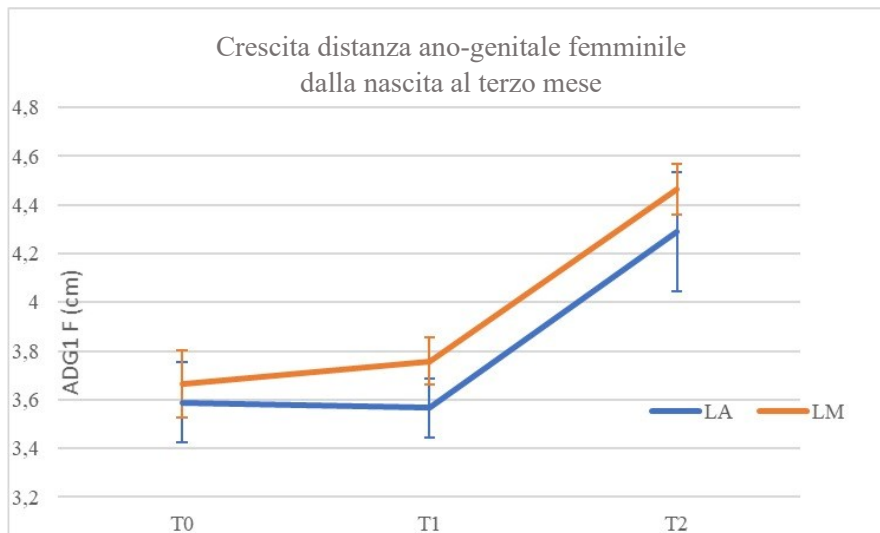


Grafico 7 Crescita della distanza anogenitale anteriore delle femmine nei gruppi LA e LM.

I dati sono mostrati come medie \pm errore standard

2.1.4.2 Posteriore

L'analisi statistica (ANOVA a una via) è stata compiuta sulla distanza ano-genitale posteriore in relazione al fattore allattamento, in relazione ai 3 tempi T0, T1 e T2, sia nei maschi che nelle femmine. L'analisi non ha evidenziato alcuna significatività nei gruppi, ad eccezione della crescita della distanza ano-genitale nel tempo

(M: $F_{2,82}=11,647$, $p<0,001$, partial eta squared=0,37) (F: $F_{2,68}=1,0693$, $p<0,001$, partial eta squared=0,21) (Grafici 8 e 9).

| | LA | LM |
|-----------|--------------|--------------|
| T0 | 2,6 cm ± 0,2 | 2,1 cm ± 0,1 |
| T1 | 2,7 cm ± 0,2 | 2,1 cm ± 0,1 |
| T2 | 3,3 cm ± 0,2 | 2,7 cm ± 0,2 |

Tabella 12 Distanza ano-genitale posteriore media maschile dei gruppi LM e LA

I dati sono mostrati come medie ± errore standard

| | LA | LM |
|-----------|--------------|--------------|
| T0 | 2,2 cm ± 0,2 | 2 cm ± 0,1 |
| T1 | 2,4 cm ± 0,2 | 2,1 cm ± 0,1 |
| T2 | 3 cm ± 0,2 | 2,7 cm ± 0,2 |

Tabella 13 Distanza ano-genitale posteriore media femminile dei gruppi LA e LM.

I dati sono mostrati come medie ± errore standard

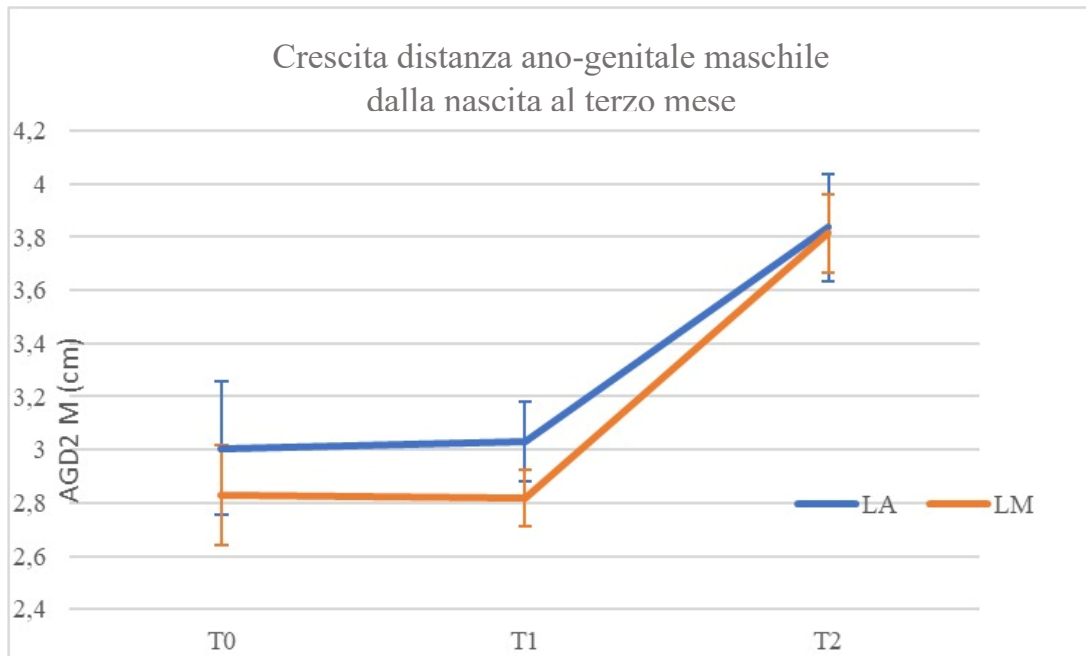


Grafico 8 Crescita della distanza anogenitale posteriore dei maschi nei gruppi LA e LM.

I dati sono mostrati come medie \pm errore standard

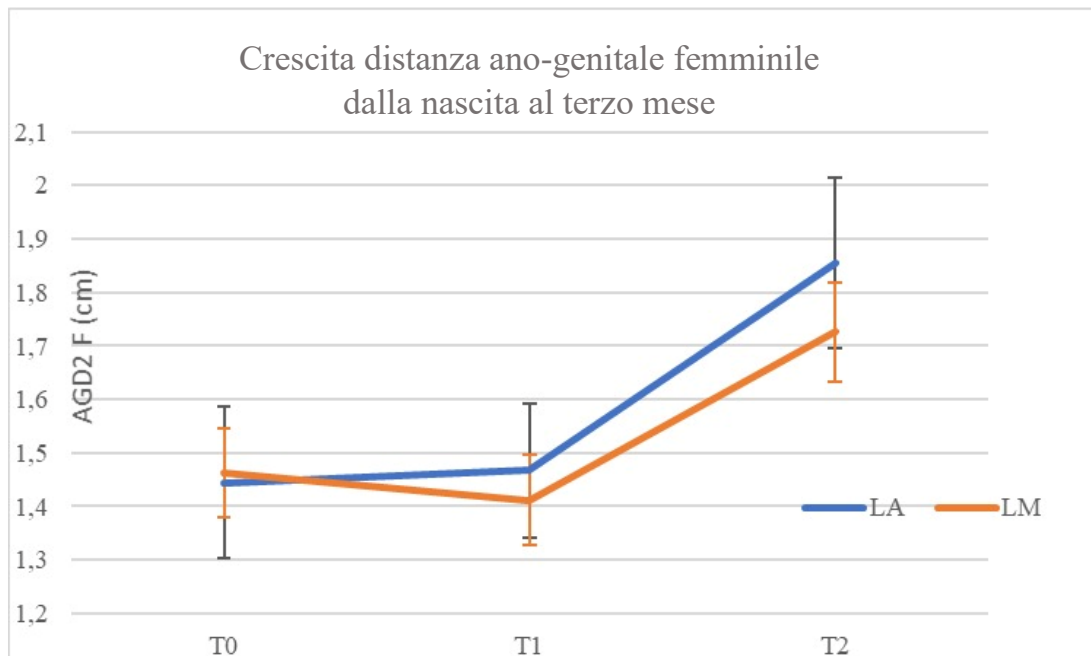


Grafico 9 Crescita della distanza anogenitale posteriore delle femmine nei gruppi LA e LM.

I dati sono mostrati come medie \pm errore standard

3. Paradigma Face-to-face Still Face (FFSF)

L'analisi della risposta socio-emozionale al paradigma FFSF è stata condotta con ANOVA fattoriale (emo* sesso) per osservare l'effetto del sesso sull'emozionalità nelle fasi del paradigma. L'analisi è stata condotta separatamente tra le tre tipologie di emozione (positiva, negativa e neutra) (Grafici 11 e 12).

Indipendentemente dal sesso, l'andamento dell'emozionalità positiva varia nelle fasi del test (fase: $F_{4,96}=25,80$, $p < 0,001$, partial eta squared=0,52), infatti dalla fase Play alla Still Face 1 la durata dell'emozionalità positiva decresce, per poi risalire nella fase Reunion 1; in seguito, si ha nuovamente una diminuzione (Still Face 2) e infine un riaumento (Reunion 2).

L'emozionalità positiva espressa durante le fasi sebbene non differisca per il sesso, nella Reunion 2 risulta essere in percentuale più alta nelle femmine rispetto ai maschi e infatti nell'analisi non raggiunge la significatività ma è prossima ad essa ($F_{4,96}=3,7959$, $p=0,063$).

L'emozionalità neutra espressa ha avuto un andamento simile per tutta la durata del paradigma FFSF, sia nei maschi che nelle femmine.

L'andamento dell'emozionalità negativa evidenziata nel paradigma non ha mostrato nessuna differenza nei due sessi. L'effetto delle diverse fasi sull'emozionalità dà un risultato statisticamente significativo (fase: $F_{4,96}=26,3899$, $p < 0,001$, partial eta squared=0,52), evidenziato nella fase Play da durata molto bassa che aumentano di molto nella Still Face 1, andando a diminuire nella Reunion 1; nella Still Face 2 si osserva un nuovo picco di emozione negativa che poi diminuisce nella Reunion 2.

| | Emozionalità negativa (1) | Emozionalità neutra (2) | Emozionalità positiva (3) |
|-------------------|--------------------------------------|------------------------------------|--------------------------------------|
| Play | 17,92 | 26,71 | 55,37 |
| Still Face | 69,25 | 21,61 | 9,15 |
| Reunion | 38,87 | 22,43 | 38,69 |
| Still Face | 77,54 | 14,09 | 8,37 |
| Reunion | 49,9 | 19,55 | 30,55 |

Tabella 14 Percentuale della media del campione nel punteggio attribuito all'emozionalità

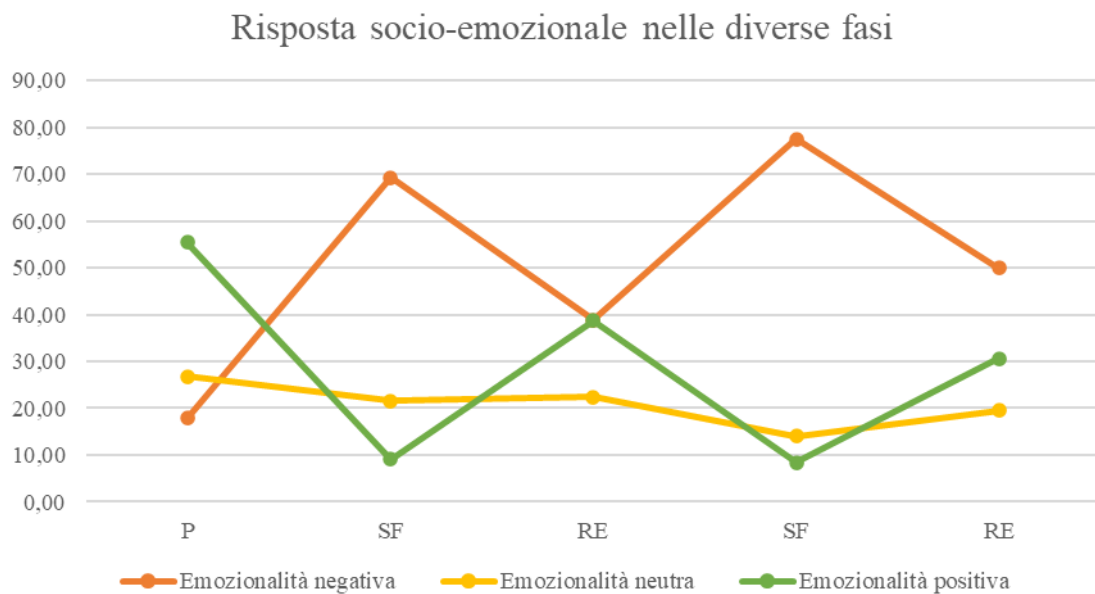


Grafico 10 Risposta socio-emozionale dei bambini alle diverse fasi del Face-to-face Still Face

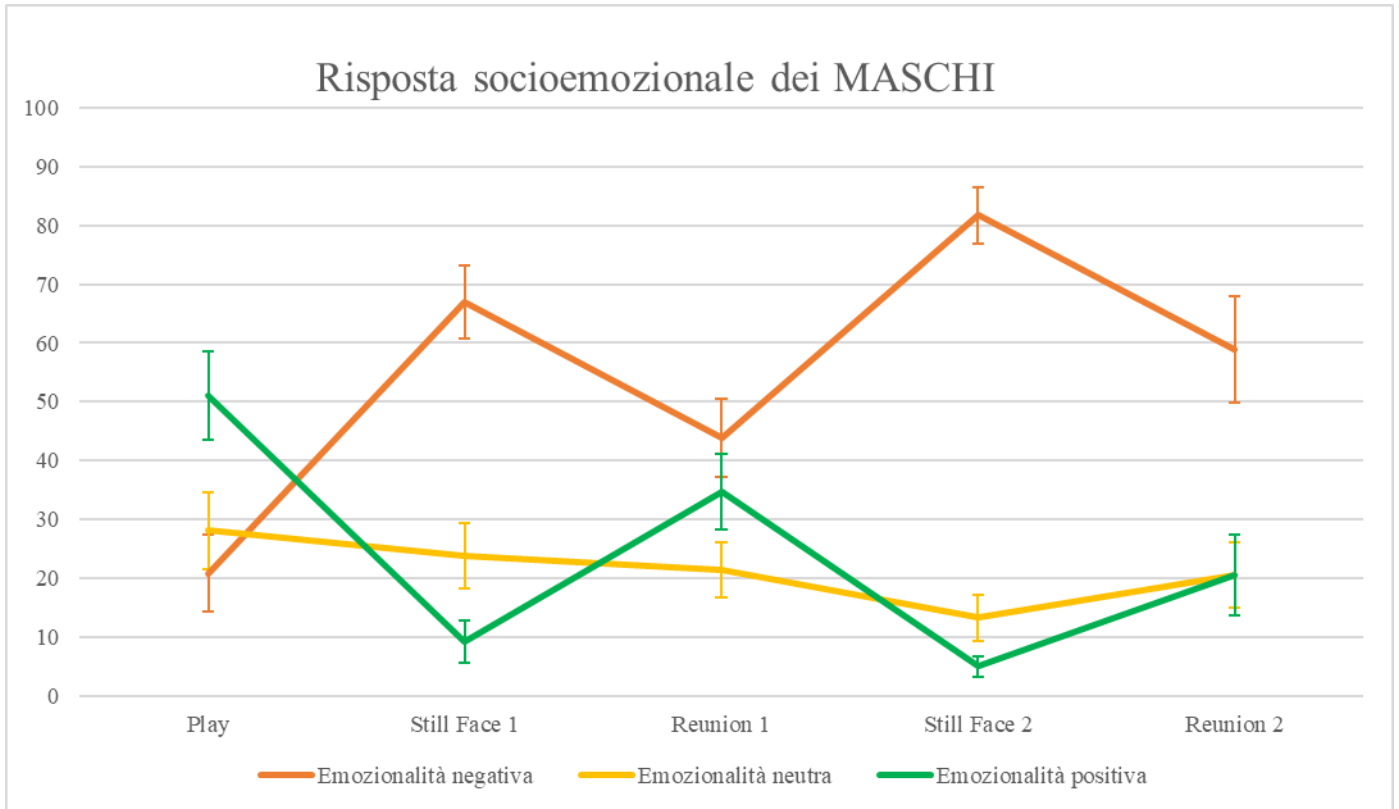


Grafico 11 Risposta socio-emozionale dei maschi alle diverse fasi del FFSF. I dati sono mostrati come medie ed errore standard.

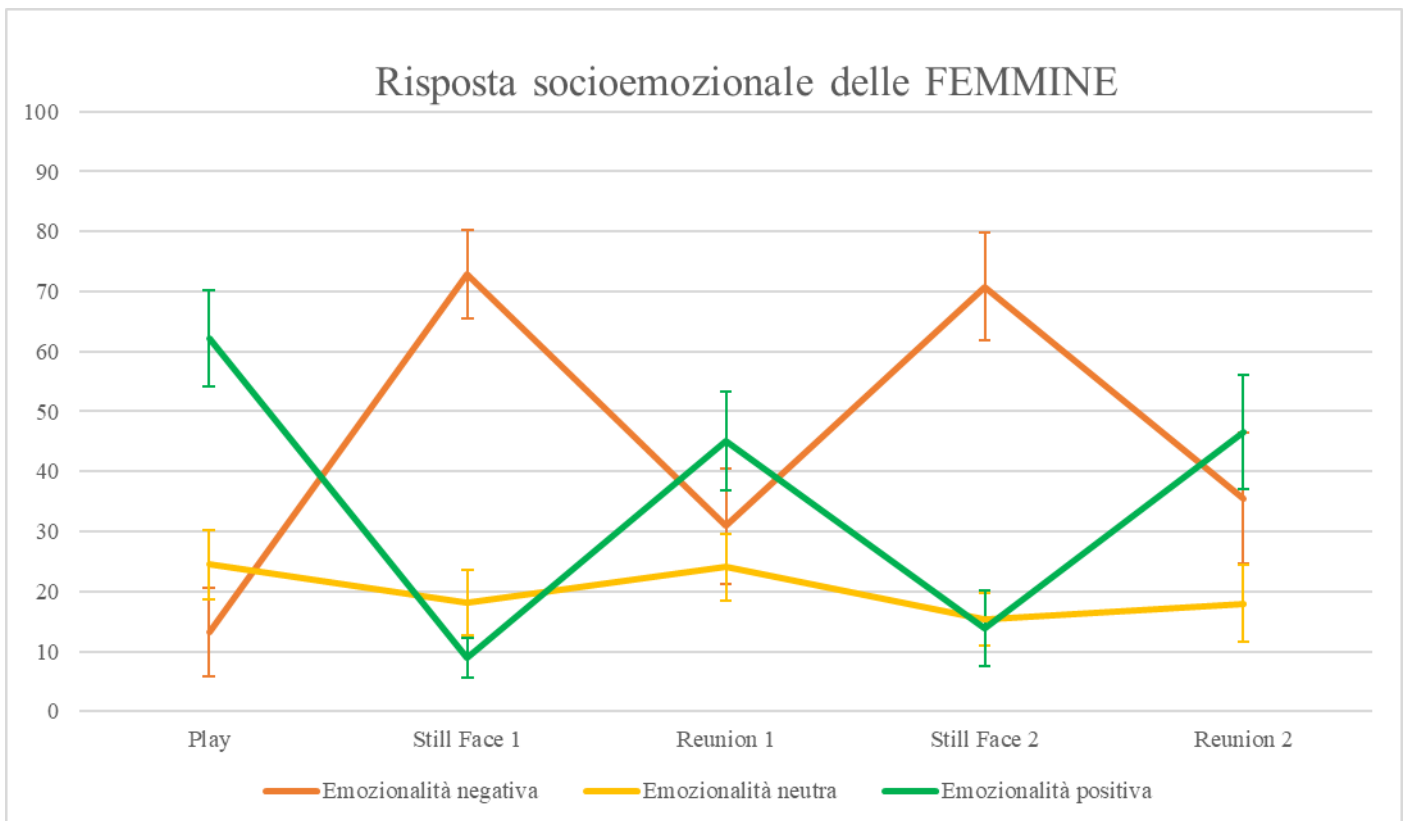


Grafico 12 Risposta socio-emozionale delle femmine alle diverse fasi del FFSF. I dati sono mostrati come medie ed errore standard.

DISCUSSIONE

Il progetto Life MILCH ha permesso di osservare e raccogliere informazioni sulla diade madre-bambino, sulle modalità di allattamento e in particolar modo sull'ambiente che circonda la crescita del neonato, osservando tali aspetti tramite tre diverse metodologie d'indagine: questionari, visite neonatologiche e test socioemozionale. L'obiettivo finale del progetto Life MILCH e, quindi, del lavoro di raccolta dati a cui ho partecipato, prevede l'associazione dei dati sulle abitudini di vita della madre con i livelli di IE riscontrati nelle urine e nel latte materno e nel bambino, e la successiva correlazione tra questi e i parametri dello sviluppo morfo-fisiologico e neuro-comportamentale infantile. A questo stadio del progetto tali associazioni non sono possibili, poiché l'analisi dei campioni biologici da parte del Laboratorio PeptLab del Dipartimento di Chimica dell'Università di Firenze, partner del progetto Life Milch, non sono ancora state ultimate. Tuttavia, è stato possibile svolgere un'analisi qualitativa e quantitativa sui dati finora raccolti nel progetto. Su questa base l'obiettivo di questo elaborato di tesi è descrivere le differenze nella crescita e nello sviluppo socioemozionale dei bambini in relazione alla modalità di allattamento: esclusivamente al seno (LM) e con latte artificiale (LA).

Le analisi del questionario Q1 compilato dalla donna hanno permesso di osservare il loro stile di vita, in particolare indagando la frequenza con cui utilizzano prodotti per la cura del corpo, la frequenza con cui indossano abbigliamento di particolari materiali e accessori; inoltre è stato possibile osservare lo stile di vita in relazione all'ambiente domestico, lavorativo e alle attività in cucina: non sono emerse particolari differenze tra le categorie e tra le stesse donne, suggerendo che le donne all'interno del campione conducono uno stile di vita simile.

Grazie alle risposte ottenute dal questionario Q3 compilato dalla madre sulle abitudini di vita relative al figlio, è stato possibile individuare i due gruppi di bambini all'interno del nostro campione sulla base della tipologia di alimentazione ricevuta: Latte Artificiale - LA (n=29) e Latte Materno - LM (n=52). Dalle analisi del questionario è emerso che le madri che allattano esclusivamente al seno (LM) riferiscono abitudini diverse durante l'allattamento utilizzando maggiormente ausili per l'allattamento al seno (ad esempio il cuscino), rispetto alle madri che utilizzano il latte artificiale. Ciò che emerge è che nonostante la maggioranza (65%) del campione di bambini sia nutrito esclusivamente con materno, i bambini del gruppo LA mostrano una maggiore incidenza di contatto con biberon e oggetti in plastica, utilizzati per il loro nutrimento.

La raccolta dei parametri di crescita del bambino ha permesso di valutarne lo sviluppo fisico all'interno dei due gruppi LA e LM. Non sono emerse differenze significative tra il gruppo di coloro allattati con latte materno e i bambini nutriti con latte artificiale per quanto riguarda la crescita corporea in termini di lunghezza, peso, circonferenza cranica e AGD. Dunque, non è ancora possibile trovare conferma di quanto affermato dalla letteratura riguardo al fatto che i bambini allattati con latte artificiale peserebbero di più dei bambini che si nutrono di latte materno (Gale, et al., 2012). La mancata differenza in termini di peso corporeo tra i due gruppi potrebbe essere dovuta sia al fatto che il campione preso in esame è numericamente limitato ed in inoltre, anche al fatto che le differenze in termini di peso corporeo tra bambini allattati al seno e con latte artificiale emergono principalmente a 12 mesi, dove i bambini che assumono latte artificiale pesano in media 500 g in più dei bambini allattati al seno (Gale, et al., 2012). Quindi, la mancanza di differenze tra i due gruppi potrebbe anche essere attribuita al fatto che a 3 mesi non si evidenziano ancora le differenze riscontrabili ai 12 mesi. Questa valutazione

sarà quindi possibile nel prosieguo del progetto Life MILCH, che prevede di valutare i bambini anche a 6 e 12 mesi di età.

È tuttavia interessante notare come la crescita fisica sia diversa dallo sviluppo delle caratteristiche genitali: peso e lunghezza seguono un pattern di crescita simile tra i parametri dalla nascita al terzo mese, mentre la distanza ano-genitale posteriore e anteriore non mostrano crescita dalla nascita al primo mese, per poi invece aumentare in maniera significativa nei due mesi successivi, sia in maschi che femmine, sia tra allattati al seno che con latte artificiale.

Il parametro della distanza ano-genitale è considerato un indicatore (biomarker) dell'esposizione agli IE (Foster, 2006), sia alla nascita che durante i primi mesi di vita del bambino. Infatti, durante i primi tre mesi di vita del bambino avviene il fenomeno della mini-pubertà, in cui si verificano variazioni della secrezione degli ormoni sessuali (Swan, et al., 2015). Questo rappresenta quindi fase delicata dello sviluppo, sensibile alle possibili interferenze degli inquinanti ad azione endocrina (IE). Rispetto a coloro che sono allattati al seno, i bambini del campione che sono nutriti con latte artificiale nei primi tre mesi di vita vengono maggiormente a contatto con biberon e contenitori in plastica. Una possibile ipotesi, che richiede ulteriori analisi, è che il maggiore impiego di biberon e contenitori in plastica per il latte in formula possa aumentare l'esposizione dei bambini agli IE (Beal, 2018; Pacyga, et al., 2019), e che potrebbero interferire con le traiettorie di sviluppo del bambino, in particolare per quanto riguarda i parametri di accrescimento e di maturazione sessuale (Swan, et al., 2015). Tuttavia, nel campione in esame non si evidenziano differenze significative dovute in termini di parametri di crescita e di sviluppo. Questo potrebbe essere dovuto alla limitata numerosità del campione che rappresenta infatti solo una coorte del progetto Life MILCH.

Lo sviluppo socio-emozionale è stato osservato tramite il paradigma Face to Face Still Face (Tronick, et al., 1978), che consiste nell'osservare la risposta del bambino di fronte al fattore stressante dato dall'assenza comunicativa materna. L'analisi dettagliata delle espressioni emozionali del bambino ha indicato che: l'emozionalità negativa e positiva mostrano un andamento speculare tra loro, ossia quando l'emozionalità negativa prevale, la positiva è ai valori minimi e viceversa. L'emozionalità neutra mostra all'incirca la stessa percentuale nelle diverse fasi. Non è stato possibile indagare le differenze nelle risposte socioemozionali dei gruppi LA e LM, a causa dello sbilanciamento del campione, dunque, al momento non è possibile valutarne le differenze. Pertanto, mi sono focalizzata nell'analisi delle differenze in base al sesso. La percezione ed espressione delle emozioni possono variare in bambini e bambine nei primi mesi di vita (Haley & Stansbury, 2003) e in particolare, la letteratura identifica nelle bambine un più alto livello di emozione negativa al termine della procedura.

Confrontando il primo momento, in cui i bambini sono sottoposti allo stress dovuto dall'assenza comunicativa materna (Still Face 1), con il secondo momento (Still Face 2) si osserva che i maschi reagiscono con maggiore emozione negativa rispetto alle femmine. I maschi mantengono l'espressione emozionale negativa anche nelle fasi di Reunion, mostrandola in misura maggiore rispetto alle femmine. Quindi, nel campione si verifica un effetto dello stress in particolare nei maschi, i quali reagiscono con espressioni emozionali negative in misura maggiore rispetto alle femmine.

Le differenze qui rilevate nei bambini e nelle bambine nella risposta ad una situazione di stress sembrerebbero suggerire che vi possano essere delle differenze di genere nella regolazione della propria emozione. Gli studi presenti in letteratura effettivamente riportano differenze tra bambini di sesso maschile e femminile, osservando però che

queste ultime terminavano la procedura con un più alto livello di emozionalità negativa (Haley & Stansbury, 2003). Questo dato non è in linea con i nostri risultati. Probabilmente questo è dovuto al numero ristretto del campione (M=16, F=10), per cui sono necessari ulteriori osservazioni e analisi a conferma o meno di quanto descritto.

In conclusione, grazie alla partecipazione diretta alla raccolta dei dati e all'osservazione dello stile di vita della madre e delle abitudini alimentari del bambino, avvenuta grazie alla varietà degli strumenti a disposizione, è stato possibile effettuare una preliminare descrizione della crescita e dello sviluppo socio-emozionale dei bambini del campione fino al terzo mese di vita. Lo scopo di questo elaborato di tesi si colloca all'interno del progetto Life MILCH e dunque i dati qui valutati sono descritti in prospettiva futura di ulteriori e specifiche analisi, le quali permetteranno di avere una panoramica più completa della crescita dei bambini allattati al seno e allattati con latte artificiale, con l'obiettivo ultimo di migliorare e promuovere il benessere della diade madre-bambino.

Appendice

1° screening

Recruitment of 1000 women
(200 PR; 400 RE & Montecchio; 400 Cagliari)
Questionnaire #1 and #2

Questionnaire #1 and #2
Questionnaire #3

Collection of mother urine and serum and
EDCs level evaluation (1000 samples)

Collection of breast-milk and
EDCs level evaluation
(500 samples)

Collection of breast-milk and
EDCs level evaluation
(500 samples)

Collection of breast-milk and
EDCs level evaluation
(500 samples)

Collection of breast-milk and
EDCs level evaluation
(500 samples)

Clinical data collection

7-8-9th gestation months

Baby delivery

1st month old baby

3rd month old baby

6th month old baby

12th month old baby

Evaluation of infant
development

Evaluation of infant
development

Evaluation of infant
development

Evaluation of infant
development

Evaluation of infant
development

Collection of infant urine,
saliva and EDCs evaluation
(at least 500 samples)

Collection of infant urine,
saliva and EDCs evaluation
(at least 500 samples)

Collection of infant urine,
saliva and EDCs level evaluation
(at least 500 samples)

Collection of infant urine, saliva
and EDCs level evaluation
(500 samples)



Bibliografia

- Achenbach, T. (1981). CBCL. *Behavioral problems and competencies reported by parents of normal and disturbed children aged 4 through 16*. Nebraska.
- Adoamnei, E., Mendiola, J., Vela-Soria, F., Fernández, M., Olea, N., Jørgensen, N., . . . Torres Cantero, A. (2018). Urinary bisphenol A concentrations are associated with reproductive parameters in young men. *Environmental Research*, 161:122-128.
- Ammaniti, M., & Gallese, V. (2014). *La nascita dell'intersoggettività*. Milano: Raffaello Cortina Editore.
- Anderson, W., Castle, L., Scotter, M. J., Massey, R. C., & Springall, C. (2001, Dicembre). A biomarker approach to measuring human dietary exposure to certain phthalate diesters. *Food additives and contaminants*, 18(12): 1068-1074.
- Andreas, N., Kamlmann, B., & Le-Doare, K. M. (2015). Human breast milk: a review on its composition and bioactivity. *Early Human Development*, 91(11):629-35.
- Andres, A., Cleves, M., Bellando, J., Pivik, R., Casey, P., & Badger, T. (2012, Maggio 28). Developmental Status of 1-Year-Old infants fed breast milk, cow's milk formula, or soy formula. *Pediatrics- official journal of the american academy of pediatrics*, 129(6): 1134-1140.
- Barreiro, B. R. (2016, giugno 8). Bioanalytical challenge: a review of environmental and pharmaceuticals contaminants in human milk. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 130:318-325
- Bayley Scales Test III edizione*. (2009). Giunti Editore.
- Beal, J. (2018). Baby bottles and bisphenol A (BPA) still a parental concern. *The american journal of maternal/child nursing*, 43(6):349
- Behura, S., Dhakal, P., Kelleher, A., Balboula, A., Patterson, A., & Spencer, T. (2019). The Brain-Placental Axis: Therapeutic and Pharmacological relevancy to pregnancy. *Pharmacol Res.*, 149
- Berger, K., Eskenazi, B., Kogut, K., Parra, K., Lusting, R., Greenspan, L., . . . Harley, K. (2018, Settembre 9). Association of prenatal urinary concentrations of phthalates and bisphenol A and pubertal timing in boys and girls. *Environmental Health Perspectives.*, 129 (9)
- Birks, L., Casas, M., Garcia, A., Alexander, J., Barros, H., Bergstrom, A., . . . al., e. (2016, Novembre). Occupational exposure to endocrine disrupting chemicals and birth weight and length of gestation: a European meta-analysis. *Environmental Health Perspectives*, p. volume 124.
- Blanck, H., Marcus, M., Tolbert, P., Rubin, C., Henderson, A., Hertzberg, V., . . . Cameron, L. (2000). Age at menarche and tanner stage in girls exposed in utero and postnatally to polybrominated biphenyl. *Epidemiology*, 11 (6): 641-647.

- Blesa, M., Sullivan, G., Anblagan, D., Telford, E., Quigley, A., Sparrow, S., . . . Boardman, J. (2019, Gennaio). Early breast milk exposure modifies brain connectivity in preterm infants. *Neuroimage*, 184: 431-439.
- Brambilla, M., Grumi, S., Pettenati, G., & Provenzi, L. (2021). *Parent-Infanti Coding System, PICS*. Parma: Università di Parma.
- Braun, J., Kalkbrenner, A., Calafat, A., Yolton, K., Ye, X., Dietrich, K., & Bruce, P. (2011, Novembre 11). Impact of early-life bisphenol A exposure on behavior and executive function in children. *Pediatrics*, 128(5):873-82.
- Ceccatelli, R., Faass, O., Schlumpf, M., & Lichtensteiger, W. (2006). Gene expression and estrogen sensitivity in rat uterus after developmental exposure to the polybrominated diphenylether PBDE 99 and PCB. *Toxicology*, 104-116.
- Chao, H.-R. W.-L., Lee, W.-J., Wang, Y.-F., & Papke, O. (2007). Levels of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in breast milk from central Taiwan and their relation to infant birth outcome and maternal menstruation effects. *Environmental International*, p. 239-245.
- Chin, H., Kelly, A., Adgent, M., Patchel, S., James, K., Vesper, H., . . . Rogan, W. (2021). Reproductive hormone concentrations and associated anatomical responses: does soy formula affect minipuberty in boys? *the journal of clinical endocrinology and metabolism*, 2635-2645.
- Collaborative Group on Hormonal Factors in breast cancer. (2002). Breast cancer and breastfeeding: Collaborative reanalysis of individual data from 47 epidemiological studies in 30 countries, including 50302 women with breast cancer and 96973 women without the disease. *hormol factors in breast cancer*, (p. 187-195). London.
- Combarrous, Y., & Nguyen, T. M. (2019). Comparative overview of the mechanism of action of hormones and endocrine disruptor compounds. *Toxics*.
- Confederazione Svizzera. (2020, Ottobre). *Ufficio federale della sicurezza alimentare e di veterinaria*. Tratto da <http://blv.admin.ch>
- Costantini, W., & Calistri, D. (2013). *Ostetrica. La fisiologia della donna: realtà e confini*. Padova: Piccin.
- Criswell, R., Crawford, K., Bucinca, H., & Romano, M. (2020, December). Endocrine-disrupting chemicals and breastfeeding duration: a review. *Current Opinion in Endocrinology & Diabetes and Obesity*, p. Volume 27- Issue 6 - p 388-395.
- de Cock, M., de Boer, M., Lamoree, M., Legler, J., & van de Bor, M. (2014, Luglio 11). First Year Growth in Relation to Prenatal Exposure to Endocrine Disruptors-A Dutch prospective cohort study. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 11(7): 7001-7021.
- de Escobar, G. M., Obregon, M. J., & del Rey, F. E. (2004, Giugno 18). Maternal thyroid hormones early in pregnancy and fetal brain development. *Best practice & research. Clinical endocrinology & metabolism*, 18(2): 225-248.

- Dickerson, A., Mohammad, R., Han, I., Bakian, A. B., Harrington, R., Pettygrove, S., . . . Zahorodny, W. (2015, Dicembre 1). Autism spectrum disorder prevalence and proximity to industrial facilities releasing arsenic, lead or mercury. *The science of the total environment*, 536: 245-251.
- DiCorcia, J. A., Snidman, N., Sravish, A. V., & Tronick, E. (2016, Marzo 21). Evaluating the Nature of the Still-Face Effect in the Double Face-to-Face Still-Face Paradigm Using different Comparison groups. *Infancy*, 21(3) p. 332-352.
- Dzwilewski, K., Woodbury, M., Aguiar, A., Shoaff, J., Merced-Nieves, F., Korrick, S., & Schantz, S. (2021, Marzo 8). Associations of prenatal exposure to phthalates with measures of cognition in 7.5 months-old infants. *Neurotoxicology*, p. 84-95.
- EFSA. (2018). *European Food Safety Authority*. Tratto da <https://www.efsa.europa.eu/it/topics/topic/dioxins-and-pcbs>
- ELAN (Version 5.9) [computer software]. (2020). Nimega, Paesi Bassi.
- EUR-Lex. (2021). *Access to European Union law*. Tratto da Eur-Lex : <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A02006R1881-20220101&qid=1643564450393>
- European Commission. (2011). *Regulation (EU) No.10/2011 on plastic materials and articles intended to come into contact with food*.
- European Commission. (2018). Towards a comprehensive European Union framework on endocrine disruptors. *Communication from the commission to the european parliament, the council, the european economic and social committee and the committee of the regions*. Brussels.
- European Commission; Unità per la Ricerca sui Servizi Sanitari e la Salute Internazionale; Karolinska Institutet; Istituto per l'Infanzia IRCCS Burlo Garofolo. (2006). *Alimentazione dei lattanti e dei bambini fino ai tre anni: raccomandazioni standard per l'Unione Europea*. Stoccolma.
- Evans, S., Kobrosly, R., Barrett, E., Thurston, S., Calafat, A., Weiss, B., . . . Swan, S. (2014, Dicembre). Prenatal bisphenol A exposure and maternally reported behavior in boys and girls. *NeuroToxicology*, 45: 91-99.
- Fagan III, J. F. (1984). The relationship of novelty preferences during infancy to later intelligence and later recognition memory. *Intelligence*, 8 (4): 339-346.
- Fischer, M. B., Ljubicic, M. L., Hagen, C., Thankamony, A., Ong, K., Hughes, I., . . . Juul, A. (2020). Anogenital distance in healthy infants: Method, age and sex related reference ranges. *Endocrine Society*. 105 (9): 2996-3004.
- Foster, P. M. (2006, Febbraio). Disruption of reproductive development in male rat offspring following in utero exposure to phthalate esters. *International journal of andrology*, 29(1)p. 140-147.
- Gale, C., Logan, K., Santhakumaran, S., Parkinson, J., Hyde, M., & Modi, N. (2012, Febbraio 1). Effect of breastfeeding compared with formula feeding on infant

- body composition: a systematic review and meta-analysis. *The american journal of clinical nutrition*, 95(3) p. 656-669.
- Gao, H., Wu, W., Xu, Y., Jin, Z., Bao, H., Zhu, P., & Su, P. (2017, Ottobre 12). Effects of prenatal phthalate exposure on thyroid hormone concentrations beginning at the embryonic stage. *Scientific Reports*, 7(1)
- Geens, T., Aerts, D., Berthot, C. B.-P., Goeyens, L., Lecomte, P., Maghuin-Rogister, G., & Pironnet, A.-M. (2012). A review of dietary and non-dietary exposure to bisphenol-A. *Food and Chemical Toxicology*, 5(3): 3725-3740.
- Gingrich, J., Tichiani, E., & Veiga-Lopez, A. (2020, Luglio). Placenta Disrupted: Endocrine Disrupting Chemicals and Pregnancy. *Trend in Endocrinology & Metabolism*, p. Vol. 31, No. 7.
- Gioiosa, L., Parmigiani, S., vom Saal, F., & Palanza, P. (2013, Aprile). The effects of bisphenol A on emotional behavior depend upon the timing of exposure, age and gender in mice. *Hormone and Behavior*, p. 598-605.
- Goldsmith, H., & Rothbart, M. (1993). *The laboratory temperament assessment battery (LAB-TAB)*. Wisconsin: University of Wisconsin.
- Gore, A., Chappell, V., S.E., F., Flaws, J., Nadal, A., Prins, G., . . . R.T, Z. (2015, Dicembre 1). EDC-2: The Endocrine Society's Second Scientific statement on Endocrine Disrupting Chemicals. *Endocrine Reviews*, p. E1-E150.
- Govarts, E., Nieuwenhuijsen, M., Schoeters, G., Ballester, F., OBELIX, & ENRIECO. (2012, Febbraio). Birth weight and prenatal exposure to polychlorinated biphenyls (PCBs) and dichlorodiphenyldichloroethylene (DDE): a meta-analysis within 12 European Birth Cohorts. *Environmental Health Perspectives*.
- Grün, F., & Blumberg, B. (2006, Giugno 1). Environmental Obesogens: organotins and Endocrine Disruption via Nuclear receptor signaling. *Endocrinology*, p. s50-s55.
- Haley, D., & Stansbury, K. (2003). Infant stress and parent responsiveness: regulation of physiology and behavior during still-face and reunion. *Child Development*, 1534-1546.
- Heindel, J., vom Saal, F., Blumberg, B., Bovolín, P., Calamandrei, G., Ceresini, G., . . . Suv. (2015, Maggio 18). Parma consensus statement on metabolic disruptors. *Environmental health*.
- Horan, T., Marre, A., Hassold, T., Lawson, C., & Hunt, P. (2017, Luglio 20). Germline and reproductive tract effects intensify in male mice with successive generations of estrogenic exposure. *Plos Genetics*.
- Horta, B., Loret de Mola, C., & Victora, C. G. (2015, Dicembre). Breastfeeding and intelligence: a systematic review and meta-analysis. *Acta Paediatrica*, 104(467) p. 14-19.
- Hortensius, L., Janson, E., van Beek, . P., Groenendaal, F., Claessens, N., Swanenburg de Veye, H., . . . Tataranno, M. L. (2021, Ottobre 13). Nutritional intake, white

matter integrity and neurodevelopment in extremely preterm born infants.
Nutrients.

- Isaacs, E., Fischl, B., Quinn, B., Chong, W., Gadian, D., & Lucas, A. (2010, Aprile). Impact of breast milk on IQ, brain size and white matter development. *Pediatric Research*, 67(4) p. 357-362.
- Istat. (2014, Novembre 24). *Istituto Nazionale di Statistica*. Tratto da <https://www.istat.it/it/archivio/139784>
- Iughetti, L., Lucaccioni, L., Bernasconi, S., & Predieri, B. (2019). Effetti degli interferenti endocrini su crescita e sviluppo puberale. *Endocrinologia pediatrica*, 49(196): 245-254.
- Jeddi, M. Z., Janani, L., Memari Hossein, A., Akhondzadeh, S., & Yunesiam, M. (2016, Febbraio 14). The role of phthalate esters in autism development: a systematic review. *Environmental research*, p. 493-504.
- Jones-Otazo, H., Clarke, J., Diamong, M., Archbold, J., Ferguson, G., Harner, T., . . . Wilford, B. (2005). Is house dust the missing exposure pathway for PBDEs? An analysis of the urban fate and human exposure to PBDEs. *Environmental science & technology*, 5121-5130.
- Kandel, E. R., Schwartz, J. H., Jessell, T. M., Siegelbaum, S. A., & Hudspeth, A. (2015). *Principi di Neuroscienze*. Rozzano (MI): Casa Editrice Ambrosiana.
- Kobrosly, R., Evans, S., Miodovnik, A., Barrett, E., Thurston, S., Calafat, A., & Swan, S. (2014, Maggio). Prenatal phthalate exposures and neurobehavioral development scores in boys and girls at 6-10 years of age. *Environmental Health Perspectives*, p. 521-528.
- Koch, H., Lorber, M., Christensen, K., Palmke, C., Koslitz, S., & Bruning, T. (2013, Novembre 6). Identifying sources of phthalate exposure with human biomonitoring: results of a 48h fasting study with urine collection and personal activity patterns. *International Journal of Hygiene and Environmental health*, p. 672-681.
- Kuwahara, R., Kawaguchi, S., Kohara, Y., Cui, H., & Yamashita, K. (2013, Agosto 2). Perinatal Exposure to low-dose bisphenol A impairs spatial learning and memory in male rats. *Journal of Pharmacological Sciences*, p. 132-139.
- Lackmann, G.-M. (2006). Human milk, environmental toxins and pollution of our infants: disturbing findings during the first six months of life. *International journal of biomedical Science*, 178-183.
- Lassen, C., Mikkelsen, S. H., & Brandt, U. K. (2011). *Migration of bisphenol A from cash register receipts and baby dummies*. Denmark: Danish Ministry of the Environment. Environmental protection agency.No:110
- Litwack, G. (2014). Chapter 5- Low dose effects of hormones and endocrine disruptors. In L. Vandenberg, *Endocrine Disruptors* 94:p. 129-165.

- Lopes, B. R., Barreiro, J. C., & Cass, Q. B. (2016). Bioanalytical challenge: a review of environmental and pharmaceuticals contaminants in human milk. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 130: 318-325.
- Macchi Cassia, V., & Turati, C. S. (2004). Can a nonspecific bias toward top-heavy patterns explain newborns' face preference? *Psychological Science*, 15(6) 379-383.
- Maragou, N., Makri, A., Lampi, E., Thomidis, N., & Koupparis, M. (2008). Migration of bisphenol A from polycarbonate baby bottles under real use conditions. *Food additive & contaminants*, 25 (3):373-83.
- Minatoya, M., Sasaki, S., Araki, A., Miyashita, C., & Itho, S. (2017). Cord blood Bisphenol A levels and Reproductive and Thyroid Hormone Levels of Neonates: the Hokkaido study on environment and children's health. *Epidemiology*, S3-S9.
- Minoia, C., Leoni, E., Sottani, C., G, B., Signorini, S., & M, I. (2008). Interferenti Endocrini: schede monografiche: PFOS e PFOA. *Ital Med*.
- Montirosso, R., Provenzi, L., Taviani, D., Missaglia, S., Raggi, M. E., & Borgatti, R. (2016). COMT val158met polymorphism is associated with behavioral response and physiologic reactivity to socio-emotional stress in 4-month-old infants. *Infant Behavior and Development*, 45,71-82.
- Mortensen, E. L., Michaelsen, K. F., & Sanders, S. (2002). The association between duration of breastfeeding and adult intelligence. *Jama Network*, 2365-2371.
- Myatt, L. (2006). Placental adaptive responses and fetal programming. *The journal of physiology*, 25-30.
- Nelson, W., Wang, Y.-X., Sakwari, G., & Ding, Y.-B. (2019). Review of the effects of perinatal exposure to endocrine-disrupting chemicals in animals and humans. *Reviews of Environmental Contamination and toxicology*.
- Newton, N. (1971). Psychologic differences between breast and bottle feeding. *The American journal of clinical nutrition*, 993-1004.
- Pacyga, D., Sathyanarayana, S., & Strkovsky, R. (2019, Settembre 1). Dietary predictors of phthalate and bisphenol exposures in pregnant women. *Advances in nutrition*, p. 803-815.
- Palanza, P., Nagel, S., Parmigiani, S., & vom Saal, F. (2016). Perinatal exposure to endocrine disruptors: sex, timing and behavioral endpoints. *Current opinion in behavioral sciences*, 7:69-75.
- Palanza, P., Paterlini, S., Brambilla, M. M., Ramundo, G., Caviola, G., Gioiosa, L., . . . Ponzi, D. (2021, Novembre 25). Sex-biased impact of endocrine disrupting chemicals on behavioral development and vulnerability to disease: of mice and children. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 121, p. 29-46.
- Palmer, B., & Clegg, D. (2015). The sexual dimorphism of obesity. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 0: 113-119.

- Pang, W. W., Tan, P. T., Cai, S., Fok, D., Chua, M. C., Lim, S. B., . . . Chan, S.-Y. (2020, Marzo). Nutrients or nursing? Understanding how breast milk feeding affects child cognition. *European Journal of nutrition*, 59(2), p. 609-619.
- Patisaul, H. B. (2021). Endocrine disruption and reproductive disorders: impacts on sexually dimorphic neuroendocrine pathways. *Society for Reproduction and Fertility*, 162 (5) 1470-1626 .
- Perera, F., Vishnevetsky, J., Herbstman, J., Calafat, A., Xiong, W., Rauh, V., & Wang, S. (2012, Agosto). Prenatal bisphenol A exposure and child behavior in an inner-city cohort. *Environmental Health Perspectives*, p. 1190-1194.
- Ponzi, D., Gioiosa, L., Parmigiani, S., & Palanza, P. (2020, Maggio 5). Effects of prenatal exposure to a low-dose of bisphenol A on sex differences in emotional behavior and central alpha2-adrenergic receptor binding. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(9):3269.
- Raja, G. L., Subahshree, D., & kantayya, K. (2022). In utero exposure to endocrine disruptors and developmental neurotoxicity: implications for behavioural and neurological disorders in adult life. *Environmental research*, 203:111829
- Rivezzi, G., Piscitelli, P., Scortichini, G., Giovannini, A., Diletti, G., Migliorati, G., . . . Giani, U. (2013). A general model of dioxin contamination in breast milk: results from a study on 94 women from the Caserta and Naples Areas in Italy. *International Journal of Environmental research and public health*, 10(11):5953-5970
- Siddique, S., Zhang, G., Coleman, K., & Kubwabo, C. (2021, Settembre 3). Investigation of the migration of bisphenols from baby bottles and sippy cups. *Current research in food science*, p. 619-626.
- Simoneau, Eede, V. d., & Valzacchi. (2012). Identification and quantification of the migration of chemicals from plastic baby bottles used as substitutes for polycarbonate. *Food Additives & contaminants*, 469-480.
- SIP Società italiana di Pediatria SIN Società italiana di neonatologia, SICuPP Società italiana delle cure primarie pediatriche, SIGENP società italiana di gastroenterologia epatologia e nutrizione pediatrica. (2015). Allattamento al seno e uso del latte materno/umano. Ministero della Salute.
- Società italiana di neonatologia SIN. (2002). *Raccomandazioni sull'allattamento materno per i nati a termine, di peso appropriato, sani*.
- Stefani, M., & Taddei, N. (2017). *Chimica & Biochimica*. Milano: Zanichelli.
- Street, M. E., & Bernasconi, S. (2020, Febbraio 20). Endocrine-disrupting chemicals in human fetal growth. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(4):1430
- Street, M. E., Angelini, S., Bernasconi, S., Burgio, E., Cassio, A. C., Cirillo, F., . . . Predieri, B. (2018). Current Knowledge on Endocrine Disrupting Chemicals (EDCs) from Animal Biology to Humans, from Pregnancy to Adulthood:

Highlights from a national italian meeting. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(6):1647

- Suen, A., Kenan, A., & Williams, C. (2022). Developmente exposure to phytoestrogens found in soy: new findings and clinical implications. *Biochemical pharmacology*, 195:114848
- Swan, S. H., Sathyanarayana, S., E.S., B., Janssen, S., F., L., Nguyen, R., & Redmon, J. (2015). First trimester phtalate exposure and anogenital distance in newborns. *Human Reproduction*, Vol.30, No.4 pp. 963-972.
- Tanner, J. (1986, Agosto). Normal growth and techniques of growth assessment. *Clinics in Endocrinology and Metabolism*, p. 411-451.
- Thankamony, A., Pasterski, V., Ong, K., Acerini, C. L., & Hughes, I. A. (2015). Anogenital distance as a marker of androgen exposure in humans. *Andrology*.
- Tronick, E., Als, H., Adamson, L., Wise, S., & Brazelton, B. (1978). The infant's response to entrapment between contradictory messages in face-to-face interaction. *Journal of the american academy of child psychiatry*, 1-13.
- van den Dries, M., Keil, A., Tiemeier, H., Pronk, A., Spaan, S., Santos, S., . . . Ferguson, K. (2021, Novembre 24). Prenatal Exposure to Nonpersistent Chemical Mixtures and Fetal Growth: a population-based study. *Environmental Health Perspectives*.
- Vanderberg, L., Colborn, T., Hayes, T., heindel, J., Jacobs, D., Lee, D.-H., . . . Zoeller, T. (2012). Hormones and Endocrine-Disrupting Chemicals: Low-dose effects and nonmonotonic dose responses. *Endocrine Reviews*, 378-455.
- Wang, B., McVeagh, P., Petocz, P., & Brand-Miller, J. (2003, Novembre). Brain ganglioside and glycoprotein sialic acid in breastfed compared with formula-fed infants. *The American journal of clinical nutrition*, p. 1024-9.
- Wechsler, D. (1958). *The Measurement and appraisal of Adult Intelligence*. Baltimore: Williams&Wilkins.
- Woods, M., Lanphear, B., Braun, J., & McCandless, L. (2017, Ottobre 27). *Environmental Health*. Tratto da <https://ehjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12940-017-0332-3>
- Zbucka-Krętowska, M., Łazarek, U., Miltyk, W., & Sidorkiewicz, I. (2019, Settembre 25). Simultaneous analysis of bisphenol A fractions in maternal and fetal compartments in early second trimester of pregnancy. *Journal of Perinatal Medicine*, p. 765-770.
- Zoeller, T., Bergman, A., Becher, G., Bjerregaard, P., Bornman, R., Brandt, I., . . . Vandeneerg, L. (2014). A path forward in the debate over health impacts of endocrine disrupting chemicals. *Environmental health*.

