



**UNIVERSITÀ
DI PARMA**

DIPARTIMENTO DI MEDICINA E CHIRURGIA

**Corso di Laurea Magistrale in
Psicobiologia e Neuroscienze Cognitive**

**Dieta materna e sviluppo neurocomportamentale del neonato in una
coorte del progetto Life MILCH: il test della preferenza visiva.**

Relatore:

Chiar.ma Prof.ssa Paola Palanza

Controrelatore:

Chiar.ma Prof.ssa Annalisa Pelosi

Laureanda:

Deborah Delbosco

ANNO ACCADEMICO 2021-2022

Questo studio è stato realizzato all'interno del progetto Life-MILCH, che ha l'obiettivo di valutare l'esposizione agli interferenti endocrini nella diade madre-bambino al fine di sviluppare azioni di prevenzione e riduzione dell'esposizione per promuovere una migliore salute nel bambino.

L'obiettivo di questo studio è stato quello di indagare la relazione tra il comportamento alimentare della donna in gravidanza e la crescita fisiologica nel bambino alla nascita e lo sviluppo neurocomportamentale al primo mese di vita.

L'importanza della valutazione dei parametri di crescita alla nascita risiede nella teoria *Developmental Origin of Health and Disease* (DOHaD) che vede una forte associazione tra la crescita ridotta del bambino alla nascita e l'aumentato rischio di sviluppare malattie croniche nell'età adulta. L'alimentazione della donna durante la gestazione condiziona la crescita fisica del bambino: ad un elevato consumo di proteine in gravidanza si associa una ridotta crescita fisica misurata nel bambino al momento della nascita. In questo studio, l'analisi è stata condotta sulla frequenza di assunzione di alimenti di origine vegetale e di origine animale. Il risultato emerso è in linea con la letteratura: all'aumentare della frequenza di assunzione degli alimenti di origine animale (contenenti più proteine rispetto a quelli di origine vegetale) si osserva una riduzione del peso e della lunghezza del bambino alla nascita.

Inoltre, le ricerche della teoria DOHaD hanno osservato l'esistenza di effetti della dieta materna sullo sviluppo neurocomportamentale del bambino a breve e a lungo termine. È stata indagata l'ipotesi che assumere più frequentemente in gravidanza zuccheri e alimenti calorici fuori dai pasti principali comporti un effetto sul comportamento del bambino osservato durante lo svolgimento del paradigma della preferenza visiva. In merito non è presente una letteratura specifica e non sono emersi effetti direttamente legati alla preferenza visiva.

Nello studio, quindi, si è approfondito l'effetto delle calorie fuori pasto, assunte dalla donna in gravidanza, sull'attenzione sostenuta mostrata dal bambino durante il paradigma della preferenza visiva. Gli studi condotti su modelli di topo mostrano che all'aumentare della dose di zucchero nella madre durante la gravidanza, la prole manifesta un'attenzione in calo. Il risultato emerso non concorda con la letteratura: all'aumentare della frequenza fuori pasto dell'assunzione di calorie, il tempo di fissazione mostrato dal bambino aumenta.

Sono necessari ulteriori studi per indagare con modalità più approfondite le diete delle donne in gravidanza, ad esempio si suggerisce l'utilizzo del diario alimentare sotto forma di app per smartphone, con l'obiettivo di individuare comportamenti alimentari che fungerebbero da fattori di rischio per la salute presente e futura del bambino.

Sommario

1	INTRODUZIONE	8
1.1	Il progetto Life MILCH.....	8
1.1.1	Primo screening della diade madre-bambino	9
1.2	La dieta.....	10
1.2.1	La dieta in gravidanza.....	15
1.3	Il peso alla nascita come fattore predittivo di malattie croniche	18
1.4	Le interazioni tra dieta materna e sviluppo della prole.....	19
1.4.1	Effetti sulla crescita.....	20
1.4.2	Effetti sullo sviluppo neurocomportamentale.....	21
2	SCOPO DELLA TESI.....	24
3	MATERIALI E METODI.....	26
3.1	Campione	26
3.2	Strumenti	27
3.2.1	Somministrazione Questionario Alimenti a T0.....	27
3.2.2	Creazione delle variabili ANIMALE, VEGETALE e CALORIE EXTRA.....	28
3.2.3	Scheda neonatologica alla nascita.....	30
3.2.4	Scheda neonatologica al primo mese	32
3.2.5	Paradigma della preferenza visiva	33
3.2.6	Analisi statistica	35
3.3	Procedura	36
3.3.1	Reclutamento (T0).....	36
3.3.2	Parto - nascita (T0).....	36
3.3.3	Visita al primo mese (T1).....	37

4	RISULTATI	38
4.1	Analisi dell'effetto della dieta materna sulla crescita del neonato	38
4.2	Paradigma della preferenza visiva	42
5	DISCUSSIONE	45
6	BIBLIOGRAFIA.....	50

Indice tabelle

Tabella 1 - Attribuzione dei valori numerici da 0 a 4 alle risposte di frequenza di assunzione dell'alimento presenti nel Questionario Alimenti.	30
Tabella 2 - Descrizione dei tempi di fissazione nel paradigma della preferenza visiva totali e secondo le condizioni sperimentali.	42

Indice figure

Figura 1 - Timeline delle fasi del primo screening del progetto Life MILCH.	9
Figura 2 - Criteri di Tanner per gli stadi puberali e il volume testicolare (Sperling, 2008).....	31
Figura 3 - Criteri di riferimento per la misura della distanza ano-genitale anteriore e posteriore nei due sessi (Swan, 2015)	31
Figura 4- Stimoli utilizzati nel paradigma della preferenza visiva.	33
Figura 5 – Setting per lo svolgimento del paradigma della preferenza visiva usato nel progetto Life MILCH.	34
Figura 6- Il grafico rappresenta l'effetto che la frequenza di assunzione di derivati animali ha sulla lunghezza del bambino alla nascita.....	38
Figura 7 – Il grafico rappresenta l'effetto che la frequenza di assunzione di derivati animali ha sul peso del bambino alla nascita.	39
Figura 8 - Distribuzione del tempo di fissazione verso il volto dritto e verso il volto inverso.	42
Figura 9 - Distribuzione del tempo di fissazione nel trial 1 e nel trial 2.....	43
Figura 10 - Il grafico rappresenta l'effetto che la frequenza di assunzione di alimenti calorici fuori pasto ha sul tempo di fissazione del bambino nel secondo trial del paradigma della preferenza visiva.	44

1 INTRODUZIONE

1.1 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 valutare l'esposizione agli interferenti endocrini (IE) nella diade madre-bambino al fine di sviluppare azioni di prevenzione e riduzione dell'esposizione per promuovere una migliore qualità della salute del bambino. Il progetto è quinquennale e multicentrico e coinvolge gli ospedali di Parma, Reggio Emilia e Cagliari. L'esposizione della diade madre-bambino agli IE viene valutata dall'ultimo trimestre di gravidanza fino al primo anno di vita a livello biologico (raccolta ed analisi di campioni biologici di plasma materno, sangue cordonale, urina del bambino, urina e latte materni) e comportamentale.

Il progetto si suddivide in tre fasi:

- Primo screening: valutazione dei livelli di IE nei campioni biologici raccolti per individuare la correlazione tra livelli di esposizione e parametri di sviluppo del bambino. Sulla base dei risultati emersi, verrà costruito un modello di rischio statistico in relazione alle fonti di esposizione per sviluppare una campagna di prevenzione diretta a giovani donne in età riproduttiva, donne in gravidanza e ai professionisti che si occupano della salute di questi soggetti (personale ostetrico, ginecologico e pediatrico);
- Secondo screening volto a valutare l'efficacia della campagna di prevenzione nelle donne che vi hanno preso parte durante la gravidanza e allattamento;
- Terzo screening, effettuato a distanza di tempo, si propone di confermare l'eventuale riduzione dell'esposizione alle sostanze.

L'obiettivo finale del progetto Life-MILCH è modificare, attraverso azioni preventive efficaci, lo stile di vita e abitudini alimentari della diade madre-bambino per ridurre l'esposizione a queste sostanze e migliorare la qualità della vita e dell'ambiente circostante.

1.1.1 Primo screening della diade madre-bambino

Il primo screening del progetto Life-MILCH prevede il reclutamento di 200 donne, tra la 36° e la 41° settimana di gravidanza, nel reparto maternità dell'Azienda Ospedaliero-Universitaria di Parma.

Come mostrato in Figura 1, sono previsti 6 momenti, iniziando con il reclutamento, a seguire la nascita del bambino e successivamente quattro incontri di follow up a 1-3-6-12 mesi del bambino.



Figura 1 - Timeline delle fasi del primo screening del progetto Life MILCH.

In questi momenti, vengono raccolti i campioni biologici per il biomonitoraggio:

- al reclutamento, urina materna;
- al parto, plasma materno e sangue cordonale;
- ad ogni follow up, urina del bambino e della madre, latte materno e/o latte artificiale.

L'analisi degli IE nei campioni raccolti viene svolta dal laboratorio PeptLab dell'Università di Firenze.

Gli IE ricercati sono 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.

Le fonti di esposizione agli IE sono indagate tramite questionari ottenuti dall'adattamento del questionario redatto nell'ambito del precedente progetto Life, *Life-PERSUADED project approach on phthalates and bisphenol A biomonitoring in Italian mother-child pairs linking exposure and juvenile diseases* (la Rocca et al., 2018). Il primo questionario riguarda lo stile di vita della donna, il secondo le abitudini alimentari (approfondito nel capitolo *Materiali e metodi*) e il terzo indaga le abitudini di vita del bambino.

Il bambino viene visitato alla nascita e ai follow up a 1, 3, 6 e 12 mesi al fine di valutarne i parametri di crescita e sviluppo, in particolare: la lunghezza, il peso, la circonferenza cranica, gli stadi puberali infantili e la distanza ano-genitale.

L'osservazione dello sviluppo neuro-comportamentale è stata svolta ad ogni follow-up tramite dei test volti a far emergere differenti aspetti, tenendo conto dell'età del bambino: alla visita del primo mese, il paradigma della preferenza visiva (Macchi Cassia et al., 2004); a 3 mesi il paradigma Face-to-face Still-face (Tronick et al., 1978); a 6 mesi, il Fagan Test (Fagan, 1984); in ultimo, al dodicesimo mese, il Barrier Task (Goldsmith & Rothbart, 1993). Al 6° e al 12° mese, si svolgeva anche la valutazione del neurosviluppo utilizzando la scala Bayley-III (Bayley, 2009).

1.2 La dieta

La dieta può essere definita come l'insieme degli alimenti che un individuo assume abitualmente (Bolelli, 2006). Essa è oggetto di un complesso processo chiamato alimentazione, attraverso il quale l'individuo sceglie e consuma alimenti e bevande, che apportano nutrienti all'organismo (FeSIN, 2010).

Gli alimenti si possono distinguere in base all'origine:

- Animale: carne (fresca e conservata), pesce, crostacei e derivati animali, come latte e uova;
- Vegetale: cereali, ortaggi, frutta, legumi e funghi;
- Minerale: acqua e sali minerali non estratti dalle precedenti categorie (FeSIN, 2010).

I nutrienti sono le sostanze chimiche contenute negli alimenti, che vengono assorbite nel processo di digestione e hanno un ruolo definito nel metabolismo umano. Essi possono essere distinti in due principali tipologie: macronutrienti e micronutrienti. Nei macronutrienti rientrano i carboidrati, le proteine e i grassi (FeSIN, 2010).

I carboidrati sono sostanze composte da carbonio e acqua. Essi sono la principale fonte di energia per l'organismo e sono contenuti principalmente in alimenti di origine vegetale, soprattutto nei

cereali. Le molecole che rientrano in questa categoria sono glucosio, fruttosio, galattosio, saccarosio, lattosio e maltosio (Istituto Superiore di Sanità, 2018a).

Le proteine sono molecole di grandi dimensioni formate da una struttura di base in carbonio, azoto, ossigeno e idrogeno, a cui possono legarsi elementi come zolfo, fosforo e metalli (ferro, zinco e rame). Sono le molecole maggiormente presenti negli organismi ed assolvono molteplici funzioni, ad esempio, strutturali, protettive, di trasporto e deposito e di contrazione. Una delle funzioni più importanti è quella svolta dagli enzimi (costituiti da proteine) che permettono/accelerano reazioni chimiche nell'organismo per ottenere energia, regolando l'utilizzo dei nutrienti a disposizione. Le proteine sono formate da sequenze di aminoacidi. Esistono 20 aminoacidi proteici, di cui alcuni sono sintetizzati dall'organismo, mentre altri devono essere introdotti tramite l'alimentazione (soprattutto con alimenti di origine animale o legumi) (Istituto Superiore di Sanità, 2018d).

I grassi (o lipidi) sono molecole che si distinguono dalle precedenti per la loro caratteristica di insolubilità in acqua e per l'elevata quantità di energia che forniscono. Si distinguono gli acidi grassi saturi, maggiormente presenti in alimenti di origine animale, che tendono ad aumentare il colesterolo nel sangue, dagli acidi grassi insaturi, maggiormente presenti in alimenti di origine vegetale, che possono avere un ruolo protettivo per il sistema cardiovascolare. In generale, i lipidi sono presenti a livelli elevati in formaggi, carne rossa e conservata, frutta secca e a guscio, mentre si trovano a livelli inferiori in frutta, verdura, carne bianca e pesce magro (Istituto Superiore di Sanità, 2018b).

Per quanto riguarda i micronutrienti, hanno ruoli ed effetti definiti nel metabolismo umano, ma non forniscono energia. I micronutrienti sono presenti nella dieta in quantità ridotte rispetto ai macronutrienti. In questa categoria si trovano i minerali (come calcio, magnesio, sodio, potassio) e gli oligominerali (come ferro, rame, manganese, iodio, selenio e zinco (Istituto Superiore di Sanità, 2018c)). Anche le vitamine fanno parte dei micronutrienti; il loro ruolo è quello di facilitare i processi che avvengono nel corpo (Istituto Superiore di Sanità, 2018e). Ogni elemento assolve funzioni di regolazione e supporto alle attività dell'organismo.

Per definire una dieta sana è fondamentale il rispetto dell'adeguatezza nutrizionale, che cambia in base alle condizioni del singolo. Con il termine adeguatezza nutrizionale si intende che il cibo

assunto dia la possibilità di garantire riserve corporee di nutrienti prevenendo possibili carenze, di mantenere le funzioni dell'organismo a livelli ottimali e di prevenire l'insorgenza di alcune patologie (FeSIN, 2010).

Le linee guida per una sana alimentazione fornite dal centro di ricerca CREA–Alimenti e Nutrizione (2019) dichiarano che “esse si propongono la tutela della salute in situazioni in cui fattori socio-economici e comportamentali determinino eccessi o carenze di assunzione alimentare con conseguenti effetti sulla salute dell'individuo.” (pag. 15). Le linee guida per una sana alimentazione sono formulate per facilitare l'applicazione dei Livelli di Assunzione di Riferimento di Nutrienti ed energia (LARN). I LARN forniscono le porzioni standard per ogni gruppo alimentare, da utilizzare come strumento per definire le diete destinate a differenti fasce d'età e/o a gruppi con esigenze nutrizionali specifiche (Società Italiana di nutrizione umana, 2014).

Nelle linee guida per una sana alimentazione vengono presentate le categorie di alimenti di cui si consiglia un maggiore consumo oppure di cui si consiglia un'assunzione limitata.

I suggerimenti per una sana alimentazione propongono di aumentare il consumo di frutta e verdura in quanto questi alimenti hanno meno calorie per unità di peso e di volume rispetto ad altri alimenti, il che porta al raggiungimento della sazietà con un quantitativo di calorie inferiore rispetto ad altri alimenti più calorici (CREA, 2019). Frutta e verdura sono ricche di fibre, importanti per il funzionamento del tratto gastrointestinale in quanto stimolano la crescita del microbiota intestinale. Altro aspetto importante di frutta e verdura è l'apporto di vitamine, indispensabili per il funzionamento dell'organismo, e di folati, che insieme alle vitamine del gruppo B, riducono i fattori di rischio per le malattie cardiovascolari. Questa descrizione è valida per frutta e verdura poco trasformate: succhi, polpe e centrifugati hanno caratteristiche differenti dai precedenti. Inoltre, la complessità degli elementi contenuti in frutta e verdura è difficilmente compensabile con integratori alimentari, ovvero una fonte concentrata di specifiche sostanze nutritive (FeSIN, 2010). L'utilizzo di questi ultimi non garantisce gli stessi effetti protettivi degli alimenti (CREA, 2019). Si consiglia di assumere ogni giorno più di 2 porzioni e mezzo sia di frutta che di verdura (Canali et al., 2020); le porzioni standard sono 150 g per la frutta e 200 g per le verdure (Società Italiana di nutrizione umana, 2014).

Per quanto riguarda gli alimenti che fanno parte del gruppo cereali si consiglia di soddisfare con essi metà del fabbisogno energetico giornaliero, per cui anch'essi vanno assunti ogni giorno (1-2 porzioni di pasta, riso o farro, ecc.; 80 g a porzione (Società Italiana di nutrizione umana, 2014)). Inoltre, le linee guida pongono l'attenzione sul cereale integrale, il quale dovrebbe contenere tutte le parti del chicco, il che comporta la presenza di una maggiore varietà di nutrienti e fibra. Un'alimentazione che include più frequentemente cereali integrali è associata a un ridotto rischio di malattie cardiovascolari (Soliman, 2019). Il cereale integrale è anche un buon alleato di chi soffre di diabete di tipo 2, modulando il livello glicemico, e di chi deve controllare l'aumento del peso corporeo, dato che produce un maggiore senso di sazietà (CREA, 2019).

I legumi rientrano tra le categorie di alimenti di cui le linee guida incoraggiano un maggiore consumo. La frequenza consigliata è di almeno 2-3 volte alla settimana, in porzioni comprese tra 50 g e 150 g (Società Italiana di nutrizione umana, 2014), alternandoli alla carne e al pesce (Canali et al., 2020). I legumi forniscono un elevato apporto di proteine, di fibra, di folati e di micronutrienti (ferro, zinco e rame). Comunque, si ricorda che le proteine contenute nei legumi sono differenti e in quantità minore rispetto a quelle contenute nei prodotti di origine animale. Per assimilare al meglio le molecole proteiche si consiglia di assumere i legumi abbinati ai cereali, mentre per l'assimilazione del ferro è migliore in associazione a fonti di vitamina C (frutta e vegetali).

Ci sono altri alimenti che le linee guida consigliano di limitare. Tra questi troviamo grassi e oli usati come condimento. Nello specifico si dovrebbero preferire i grassi insaturi di origine vegetale a quelli di origine animale e ai grassi saturi (ad es. olio di palma o cocco). L'olio d'oliva può essere assunto da 2 a 4 volte al giorno, mentre gli altri grassi sono da assumere occasionalmente (non più di 2-3 volte al mese); per tutti questi tipi di grassi la porzione standard è 10g/die (Società Italiana di nutrizione umana, 2014). L'elevata assunzione di grassi saturi si associa ad un maggiore rischio di diabete di tipo 2 e all'aumento di peso. Invece, i grassi insaturi riducono la resistenza all'insulina (Luukkonen et al., 2018). Altri alimenti che contengono grassi e sarebbe preferibile ridurre sono le carni grasse, salumi e formaggi. La frequenza consigliata di questi cibi è di 1-2 volte a settimana per la carne rossa, 1-3 volte a settimana per la carne bianca e meno di una volta a settimana per le carni conservate (le porzioni sono rispettivamente da 100 g, 100 g e 50 g (Società Italiana di nutrizione

umana, 2014)). I formaggi possono essere assunti 2-3 volte a settimana, in porzioni da 50 g (Società Italiana di nutrizione umana, 2014). Moderare il consumo di questi alimenti contribuisce a ridurre il rischio di malattie cardiovascolari (CREA, 2019).

L'altra categoria di alimenti di cui va limitato il consumo è quella di zuccheri, dolci e bevande zuccherate. Metà dell'energia derivante dagli zuccheri viene ottenuta attraverso frutta, verdura e latte, che vanno mantenuti, o come detto sopra, possono anche essere aumentati; invece, gli zuccheri liberi, come lo zucchero da cucina, le caramelle, i prodotti confezionati o le bibite andrebbero ridotti per non oltrepassare l'apporto energetico consigliato (15%) (CREA, 2019). La scelta consigliata è di limitare ad un consumo occasionale i dolci, gli snack e le bevande zuccherate (meno di 2-3 volte al mese, in porzioni da 100 g), sostituendoli con latte e yogurt, in porzioni da 125 g, al massimo 2-3 volte al giorno. Le porzioni standard di zucchero (5 g), miele e marmellate (20 g) vanno assunte non più di 2 volte al giorno (CREA, 2019).

Nella dieta così descritta appare evidente che sia consigliato un consumo più frequente di alimenti di origine vegetale rispetto agli alimenti di origine animale, ma senza escluderne alcuno; infatti, la varietà nutrizionale è promossa dalle linee guida per la sana alimentazione in quanto permette di soddisfare con completezza le esigenze nutritive (CREA, 2019).

La scelta di adottare una dieta a base vegetale è incoraggiata nelle politiche nutrizionali mondiali, in quanto ritenuta sostenibile (Sabaté & Soret, 2014). Sono ritenute sostenibili le diete che rispettano la biodiversità e gli ecosistemi, ottimizzano le risorse naturali e umane, sono economicamente eque e convenienti, sono culturalmente accessibili e accettabili e, infine, sono sicure e salutari (Burlingame & Dernini, 2010). Infatti, oltre alla sostenibilità economica ed ecologica di questa scelta alimentare, sono stati osservati benefici per la salute: nelle popolazioni che prediligono il consumo di alimenti di origine vegetale rispetto agli alimenti di origine animale si osserva un tasso inferiore di obesità, diabete e malattie cardiovascolari (Tuso et al., 2013). Un altro aspetto fondamentale nella definizione di una sana alimentazione è la varietà del cibo e un corretto bilanciamento delle diverse componenti, dato che per la corretta assimilazione di alcuni nutrienti è necessaria la presenza di

altri. La dieta è una variabile complessa, per cui non sono solo le quantità dei singoli nutrienti a fare la differenza, ma le combinazioni tra essi e la loro qualità (Moore et al., 2004).

1.2.1 La dieta in gravidanza

Il processo di alimentazione gioca un ruolo attivo nella salute degli esseri umani in ogni fase della vita, fin dalla gravidanza. La nutrizione del feto è legata all'alimentazione materna (Landecker, 2011). Con il termine nutrizione si indicano i processi biologici che permettono e condizionano la crescita e lo sviluppo dell'organismo, in relazione a energia e nutrienti disponibili (FeSIN, 2010). Lo stile alimentare tenuto dalla madre assume potenzialmente il ruolo di fattore rischio oppure di fattore di protettivo per la crescita e lo sviluppo del feto. Nel periodo di gestazione un eccessivo apporto o mancanza di nutrienti possono influenzare la crescita del feto e produrre rischi per la salute a lungo termine (Landecker, 2011). Inoltre, sono necessarie specifiche accortezze per quanto riguarda alcuni alimenti, come frutta, verdura, cereali, che non possono mancare perché forniscono nutrienti importanti allo sviluppo del feto; al contrario, carne cruda, insaccati e in generale alimenti poco cotti andrebbero evitati perché potrebbero essere fonti di rischio per la salute del feto, trasmettendo toxoplasmosi (Istituto Superiore di Sanità, 2021b).

Le linee guida sull'alimentazione da seguire in gravidanza fornite dall'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) definiscono la dieta sana come "quella basata per lo più su cibi di origine vegetale" (pag.6; World Health Organization, 2001). La dieta a base vegetale include gli stili alimentari in cui si predilige l'assunzione di frutta, verdura, cereali e legumi, e si limita l'assunzione di latticini, uova, pesce, pollame e carne rossa (Satija & Hu, 2018). La definizione di dieta a base vegetale include al suo interno specifiche diete: mediterranea, latte-ovo-vegetariana, vegana, ecc. (Tuso et al., 2013). L'incoraggiamento a seguire una dieta a base vegetale viene data non solo al fine di abbassare il rischio di contrarre la toxoplasmosi, infezione che mette a grave rischio la salute del feto (Istituto Superiore di Sanità, 2021b), ma è fornita con l'intento di promuovere il benessere generale che può derivare da una dieta in cui si predilige un maggior consumo di alimenti vegetali, come visto sopra. In condizione di gravidanza, la dieta a base vegetale è considerata protettiva rispetto a

preeclampsia, diabete gestazionale e parto pretermine (Sebastiani et al., 2019). Per evitare carenze di nutrienti e conseguenti complicazioni fetali, il punto chiave rimane il bilanciamento corretto dei diversi componenti (World Health Organization, 2001). Bilanciare non significa che tutti gli alimenti vadano mangiati nella stessa quantità, ma ogni alimento è da introdurre nella dieta per il tipo di nutrienti che apporta, necessari e sufficienti al soddisfacimento dei bisogni fisiologici (CREA, 2019).

L'interazione tra le sostanze nutritive assunte dalla madre e quelle che entrano a far parte del metabolismo del feto sono regolate dalla placenta: un organo deciduo che si forma nell'utero a partire dal concepimento (Costantini & Calistri, 2013) ed è necessario per fornire nutrienti e regolare il metabolismo e la crescita del feto (Battaglia & Thureen, 1997).

Partendo dalla categoria dei macronutrienti e concludendo con quella dei micronutrienti, si descrive di seguito il loro fabbisogno giornaliero, gli alimenti che li contengono e il loro ruolo per la salute del feto.

La principale fonte di energia per il feto è data dai carboidrati, che corrispondono al 80% del fabbisogno energetico. Essi forniscono l'energia necessaria al funzionamento e alla creazione delle cellule di tutti i tessuti del feto (Rao et al., 2013). La carenza di carboidrati risulta in poca disponibilità di energia (sia immagazzinabile che utilizzabile), per cui si può riscontrare una crescita ridotta del feto. In questi casi, il feto è in grado di trarre l'energia di cui ha bisogno da altre molecole come lattato, chetoacidi, aminoacidi, acidi grassi e glicogeno (Rao et al., 2013).

Gli acidi grassi come l'acido docosaesaenoico (DHA) e l'acido arachidonico (ARA) non attraversano direttamente la placenta: vengono ottenuti trasformando gli acidi alfa linoleici omega-3 e omega-6, forniti dalla dieta materna (Haggarty et al., 1997). Questo è il motivo per cui è spesso consigliata un'integrazione di omega-3 e omega-6 in gravidanza (de Groot et al., 2004). Essi sono fondamentali per l'adeguato sviluppo di cervello e retina del feto, soprattutto nell'ultima parte di gestazione (Jensen, 2006). Altri lipidi sono il glicerolo materno, usato per sintetizzare glucosio e renderlo disponibile al feto, e i chetoni, utilizzati per produrre energia in mancanza di disponibilità di glucosio

a seguito di diabete materno, diete con restrizione calorica o ricche di grassi (Herrera & Amusquivar, 2000).

L'aumento delle proteine durante la gravidanza è importante per il feto perché esse sono l'elemento fondamentale per la sintesi dei nuovi tessuti e per l'accrescimento fetale (Kalhan, 1998). Il glucosio può essere usato per brevi periodi come sostituto agli aminoacidi per la sintesi delle proteine: in caso di insufficienza di aminoacidi, non vi è una compromissione della crescita se l'apporto di glucosio è nella norma.

Se l'apporto di proteine e glucosio è ridotto per un periodo prolungato, la sintesi delle proteine può incorrere in una riduzione; in questa situazione, il metabolismo del feto viene mantenuto il più possibile costante, mentre il processo di crescita viene ridotto perché meno fondamentale per la sopravvivenza (Rao et al., 2013).

Tra i micronutrienti più importanti in gravidanza si trova la vitamina B9 (comprende acido folico e folati) che è contenuta maggiormente in verdura a foglia larga, piselli verdi, cavolfiore e cereali fortificati (con micronutrienti addizionati artificialmente). È importante assumere in maniera adeguata la B9 perché permette il corretto sviluppo del tubo neurale (CREA, 2019).

Il calcio andrebbe preferibilmente assunto attraverso latte e derivati a basso contenuto di grasso, verdure a foglia verde, broccoli e alcuni cereali. L'OMS (2001) suggerisce una dose giornaliera di calcio pari a 1.5-2 g. L'adeguata assunzione di calcio riduce il rischio di preeclampsia (Sebastiani et al., 2019).

Il ferro è consigliato in una dose di 20 mg/die nelle donne in gravidanza ed è reperibile in maggiori quantità assumendo carne magra, fegato e reni, o in quantità minori attraverso verdure a foglia verde e legumi (abbinandoli a cibi ricchi di vitamina C, che ne promuovono l'assorbimento) (CREA, 2019).

Il suo ruolo è importante per il trasporto dell'ossigeno nel sangue e per la formazione dei globuli rossi del feto (World Health Organization, 2001).

Lo iodio si trova maggiormente in alimenti di origine animale (Istituto Superiore di Sanità, 2021a). La dose suggerita per le donne in gravidanza è di 200 µg/die, per cui la dieta a base vegetale permette

di raggiungere questa quantità in diversi modi: alternando consumo di carne e pesce e inserendo sale iodato nella dieta (Sebastiani et al., 2019). È necessario per il corretto funzionamento della tiroide, che regola la crescita del feto.

La produzione della vitamina D avviene tramite esposizione al Sole ed assunzione di pesce. La dose consigliata è di 15 µg/die. Questa vitamina sembra ridurre l'insulino-resistenza, prevenendo il diabete gestazionale (Sebastiani et al., 2019).

La vitamina B12 non è presente negli alimenti di origine vegetale, ma si trova in maggiori quantità in carne rossa, pesce e molluschi. Il fabbisogno è di 2.2 mg/die. Essa è necessaria per il buon funzionamento di globuli rossi e sistema nervoso (Istituto Superiore di Sanità, 2018f).

1.3 Il peso alla nascita come fattore predittivo di malattie croniche

La teoria *Developmental Origin of Health and Disease* (DOHaD) propone una visione longitudinale in cui le malattie croniche dell'adulto (come patologie cardiovascolari, diabete e malattie del fegato) avrebbero la loro origine nel periodo di fertilità dei genitori, nella fase embrionale, fetale e neonatale dell'individuo, per effetto di interazioni tra geni e ambiente (Arima & Fukuoka, 2020). L'importanza delle caratteristiche del bambino alla nascita è data dal fatto che esse sono il punto di congiunzione tra lo stile di vita e alimentare della madre e la futura salute della prole.

I cambiamenti che avvengono durante la gravidanza su più livelli (nutrizionale, endocrino e cardiovascolare) influenzano l'espressione dei geni del feto; quest'ultima cambia in modo tale da permetterne l'adattamento e la sopravvivenza (Godfrey, 2002). In condizione di denutrizione o malnutrizione durante la rapida differenziazione delle cellule del feto, il nuovo organismo tenterà di far fronte alle limitazioni imposte dalla condizione ambientale instaurando un meccanismo che può portare ad una modificazione nella crescita della struttura degli organi; questo accade soprattutto nella tarda gravidanza, in cui la crescita dei tessuti è rapida. Nel tentativo di preservare in condizioni ottimali il sistema nervoso e il cervello, altri organi, come fegato e vasi sanguigni, crescono meno. Il risultato è una crescita sproporzionata tra i diversi tessuti (Kwon & Kim, 2017).

Queste conseguenze non sono reversibili, per cui l'apporto di nutrienti dopo la nascita dovrebbe essere adeguato ai meccanismi alterati che si sono instaurati; il non adeguamento dello stile di vita

a questi meccanismi fisiologici e metabolici porta ad una maggiore probabilità di incorrere in malattie croniche non trasmissibili. In base al momento dello sviluppo in cui si verifica la malnutrizione e al tipo di squilibrio di nutrienti, possono evolversi differenti malattie: ipertensione, dislipidemia, diabete mellito e resistenza all'insulina (Hales & Barker, 2001).

La rilevanza del peso del bambino alla nascita risiede nell'associazione tra basso peso della prole alla nascita e malattie cardiovascolari nell'individuo adulto che emerge in molteplici studi (Ben-Shlomo & Kuh, 2002; Huxley et al., 2000; Leon et al., 1998). Il primo studio che ha osservato una correlazione tra basso peso alla nascita e patologie dell'individuo adulto (Barker & Osmond, 1986) ha utilizzato i dati resi disponibili da Office of Population Censuses and Surveys (The National Archives, 2019). Lo studio di Barker & Osmond (1986) prende in esame le cause di morte e i relativi tassi di mortalità negli anni dal 1968 al 1978, in relazione a 212 aree comunali delle popolazioni di Inghilterra e Galles. Ciò che emerge è una forte correlazione tra il tasso di mortalità per cardiopatie ischemiche negli anni '70 e il tasso di mortalità infantile negli anni '20, in relazione alle differenti aree comunali considerate. L'ipotesi vede come prima causa la carestia, la quale ha prodotto uno stato di denutrizione nelle donne in gravidanza, le quali hanno partorito figli sottopeso e con rischio più elevato di morte alla nascita. I neonati con peso ridotto, ma sopravvissuti, sono predisposti a maggiore rischio di morire di cardiopatia ischemica in età adulta (Barker & Osmond, 1986).

1.4 Le interazioni tra dieta materna e sviluppo della prole

L'epigenetica nutrizionale si studia il fenomeno per cui le strutture e le funzioni degli esseri viventi si modificano, in base a predisposizioni trasmesse dai genitori e al tipo di nutrizione che ricevono, soprattutto nei periodi sensibili, in cui la capacità di adattamento è maggiore. Questi meccanismi sono osservabili con più evidenza nei modelli animali, ove lievi modifiche, nello specifico, della dieta materna, sia prima che durante la gravidanza, producono evidenti cambiamenti nella prole a livello fisiologico e metabolico (Landecker, 2011). Inoltre, in linea con la DOHaD, alcuni studi indagano l'esistenza di una correlazione tra la dieta materna durante la gravidanza e il rischio futuro di sviluppare disturbi neuropsicologici (Taylor et al., 2017). Indagare come la dieta materna influenzi la

crescita e lo sviluppo del feto e, successivamente, il benessere del bambino può permettere di formulare indicazioni preventive sulla dieta, da fornire alla madre per la salute del figlio.

1.4.1 Effetti sulla crescita

Differenze nella dieta materna in gravidanza sono associate a differenti effetti nella crescita della prole (Thornton & Villamor, 2015).

Guerre e carestie del ventesimo secolo sono state l'occasione per osservare come la denutrizione modificasse la traiettoria di sviluppo, sia a breve che a lungo termine (Buklijas, 2014): il peso medio alla nascita poteva ridursi di circa 550 g (Rush, 1989).

Una denutrizione del feto a gravidanza inoltrata (da metà o fine gravidanza) porta ad una crescita sproporzionata dei tessuti del feto stesso: basso peso o piccole dimensioni e dimensioni ridotte del feto rispetto alla dimensione della placenta; questi parametri si associano al maggiore rischio di malattie cardiovascolari (Barker, 1995).

Quantità non equilibrate di proteine, sia in eccesso che in difetto, assunte durante la gravidanza sono associate ad una riduzione del peso del bambino alla nascita e una crescente pressione sistolica nella prole adulta (Barker, 2012). In gravidanza, un consumo di proteine animali superiore a 50 g/die accompagnato da una bassa assunzione di carboidrati si associa ad un basso peso alla nascita, mentre un consumo di proteine animali inferiore a 50 g/die con un'elevata assunzione di carboidrati si associa ad una pressione sanguigna sistolica alta nella prole (Shiell et al., 2001). Il peso alla nascita correla positivamente con l'energia derivante dal consumo di proteine da parte della madre nelle prime fasi della gravidanza, indipendentemente dall'apporto totale di energia e dall'aumento di peso della donna durante la gravidanza. A gravidanza inoltrata l'associazione tra peso e proteine non è più presente, ma l'energia derivante dall'assunzione di carboidrati è correlata negativamente con il peso alla nascita (Moore et al., 2004).

Dallo studio osservazionale e longitudinale di Sloan et al. (2001) condotto su 2187 diadi madre-bambino, è emerso che un consumo medio di proteine, da parte della madre durante la gravidanza, superiore a 85 g al giorno si associa significativamente ad una riduzione del peso medio del bambino

alla nascita di 71 g rispetto al peso medio alla nascita di un bambino nato da una donna che assume una quantità giornaliera di proteine compresa tra 50 e 84.9 g. Inoltre, lo studio indica che le donne che hanno una dieta con un elevato consumo proteico sono il 36% del campione: un valore piuttosto alto, considerando che il 52% presenta un'assunzione intermedia, il restante 12% ne assume meno di 50 g e sono state escluse le donne che presentano un'assunzione inferiore a 25 g (Sloan et al., 2001). Questo porta a ipotizzare che le donne con una dieta in gravidanza non adeguata siano molte.

1.4.2 Effetti sullo sviluppo neurocomportamentale

Nella metanalisi di Taylor et al. (2017) sono presentati i risultati di studi che dimostrano l'esistenza dell'interazione tra dieta materna in gravidanza e gli esiti sulle prestazioni cognitive nel bambino.

Studiare queste interazioni negli esseri umani, in studi epidemiologici e longitudinali, permette poco controllo sulla variabile dietologica in quanto la dieta è un fattore intraindividuale estremamente variabile e vi sono limitazioni nel modificare la dieta di una donna in gravidanza (DeCapo et al., 2019), per questo qui si propongono prima alcune osservazioni fatte su modelli animali e in seguito due studi sull'essere umano, con grandi limitazioni dovute alla limitata letteratura specifica per la preferenza visiva e l'attenzione, in relazione alla dieta.

In uno studio su modello di ratto, a seguito di una restrizione proteica nella dieta materna nel periodo perinatale, nella prole si osserva che, oltre al basso peso corporeo alla nascita, il peso del cervello è leggermente inferiore rispetto a quello del gruppo di controllo. È presente una differenza significativa tra i due gruppi nei livelli di proteine presenti nell'ippocampo e nella corteccia. Il fattore neurotrofico cerebrale ha una concentrazione significativamente inferiore nell'ippocampo della prole nata in conseguenza alla malnutrizione avvenuta fin da inizio gravidanza: spiegherebbe in parte le compromesse capacità di memoria e apprendimento spaziale testate con il labirinto acquatico di Morris (Wang & Xu, 2007).

Per quanto riguarda le interazioni date dal consumo di calorie studiate su modello di ratto, è stato osservato che un elevato consumo di fruttosio da parte della madre, si associa, nella prole, a ridotti livelli di fattore neurotrofico cerebrale, ad una sovra regolazione dell'istone deacetilasi 4, entrambi nell'ippocampo, e ad una compromissione dell'apprendimento e della memoria (Wu et al., 2016). Relativamente ad un'elevata presenza di calorie nella dieta, è stata indagata l'ipotesi che un alto consumo di saccarosio (glucosio + fruttosio) durante la gravidanza potrebbe aumentare il rischio nella prole di sviluppare il disturbo da deficit d'attenzione e iperattività (ADHD) (Choi et al., 2015). Nello studio, condotto su modello di topo, le madri in gravidanza sono state suddivise randomicamente in tre gruppi: Controllo, a cui veniva somministrata acqua, Sac6, a cui veniva somministrata una dose di acqua con 30% m/v di saccarosio sei volte al giorno e Sac9, a cui l'acqua con saccarosio veniva somministrata nove volte al giorno. È emerso che tra gruppo di controllo e gruppi sperimentali non ci sono differenze significative nell'aumento di peso durante la crescita, ma l'attività locomotoria è significativamente maggiore nei gruppi sperimentali. Inoltre, all'aumentare della dose giornaliera di saccarosio si è osservato un livello di attenzione in calo ed un comportamento impulsivo in aumento. Nel corpo striato del gruppo Sac9 è stato trovato un aumento significativo dell'espressione dell'mRNA per il trasportatore della dopamina, un aumento di circa il doppio, a livello sinaptico, della proteina trasportatore di dopamina e una riduzione dose-dipendente dei recettori per la dopamina D1, D2 e D3. Si conclude che l'assunzione di saccarosio durante la gravidanza potrebbe aumentare il rischio per la prole di sviluppare ADHD (Choi et al., 2015).

Non è presente una letteratura specifica nell'essere umano sugli effetti della dieta in gravidanza e il paradigma della preferenza visiva o la valutazione dell'attenzione. Di seguito si presentano due studi, condotti sull'essere umano, relativamente agli effetti della dieta materna in gravidanza sulle prestazioni nella prole in compiti di abitudine e nei tempi di risposta.

In uno studio condotto in Colombia (Vuori et al., 1979), sono emerse differenze significative nel test di abitudine visiva, tra bambini nati da donne malnutrite e donne che hanno ricevuto un supplemento alimentare a partire dal sesto mese di gravidanza. I due campioni sono rispettivamente

composti da 100 e 144 diadi. Il supplemento fornito consiste di 856 calorie, 38,4 g di proteine, 6024 IU di vitamina A e 18 mg di ferro, al giorno. I bambini nati dalle donne che hanno ricevuto il supplemento fissano più a lungo alla prima presentazione dello stimolo e si abituanano più velocemente di fronte alla ripresentazione. Si osserva nel processo di abituazione una differenza legata all'età tra i due gruppi, il che sarebbe consistente con l'ipotesi di un rallentamento della maturazione dei sistemi nel caso di un inadeguato apporto di nutrienti (Vuori et al., 1979).

Specifici micronutrienti sono fondamentali per lo sviluppo di specifiche strutture e funzioni: somministrazioni aggiuntive di folati durante la gravidanza si associano ad un tempo inferiore nella risposta di fronte ad uno stimolo conflittuale e ad una maggiore attivazione della corteccia medio-cingolata, rispetto a coloro che hanno ricevuto somministrazioni di acidi grassi polinsaturi o folati + acidi grassi polinsaturi o placebo (Catena et al., 2016).

Alla luce del materiale presentato, è possibile considerare la dieta materna come uno dei fattori che influenza lo sviluppo del feto, i conseguenti parametri di crescita alla nascita e sviluppo neurocomportamentale del bambino. (Shiell et al., 2001). Conoscere come la dieta materna influisca sulla crescita e lo sviluppo del feto e del neonato può permettere di meglio comprendere tale associazione e sviluppare interventi preventivi per garantire un migliore benessere dell'individuo a partire dai primi mesi di vita.

2 SCOPO DELLA TESI

I dati oggetto di questa tesi sono stati raccolti all'interno del progetto Life MILCH con lo scopo di valutare l'impatto degli interferenti endocrini sulla crescita e sullo sviluppo neurocomportamentale del bambino. Non essendo state completate le analisi chimiche dei campioni biologici, svolte dal Laboratorio PeptLab del Dipartimento di Chimica dell'Università di Firenze, l'elaborato in questione si è concentrato sull'analisi degli effetti della dieta in gravidanza.

L'alimentazione della donna durante la gravidanza risulta avere effetti sulla crescita fisica e sullo sviluppo neurocomportamentale della prole (Landecker, 2011).

Una crescita ridotta del feto può essere causata da un'assunzione di cibo inadeguata, non correttamente bilanciata, da parte della madre durante la gravidanza (Moore et al., 2004). La crescita ridotta alla nascita correla con lo sviluppo di future malattie cardiovascolari (Barker, 1995).

Inoltre, l'assunzione non bilanciata di macronutrienti e micronutrienti può compromettere lo sviluppo cerebrale (Taylor et al., 2017) e può risultare in un maggiore rischio per lo sviluppo di alcune malattie come: depressione, ansia e ADHD (DeCapo et al., 2019). In particolare, nei modelli di topo è stato osservato che una maggiore assunzione di zuccheri semplici durante la gravidanza si associa a un'attenzione ridotta nella prole (Choi et al., 2015).

Dunque, l'importanza di una sana e consapevole dieta in gravidanza è data da un obiettivo a lungo termine: offrire ai propri figli un fattore protettivo per il loro futuro. Inoltre, le "Linee guida per la sana alimentazione" fornite dal governo italiano promuovono la scelta di un'alimentazione per lo più a base vegetale, sottolineando sia il benessere per l'essere umano che la sostenibilità ambientale di questo tipo di stile alimentare (Canali et al., 2020).

Si intende indagare se differenze nella dieta in gravidanza siano predittive di differenze nei parametri di crescita fisiologica del bambino al momento della nascita e nella preferenza visiva mostrata ad un mese di vita.

Si prendono in considerazione le frequenze con cui le donne in gravidanza assumono alimenti di origine animale e alimenti di origine vegetale. Si ipotizza che ci sia un effetto della frequenza di assunzione di queste due categorie di alimenti sui parametri di crescita del neonato alla nascita. Inoltre, si ipotizza che l'assunzione di cibi calorici fuori pasto, durante la gravidanza, possa influenzare lo sviluppo percettivo del bambino osservato con il paradigma della preferenza visiva.

3 MATERIALI E METODI

3.1 Campione

Il campione preso in esame è selezionato a partire dalle donne reclutate nel progetto Life MILCH. Il progetto ha coinvolto donne sane, di qualsiasi provenienza etnica, tra la 36° e la 41° settimana di gestazione con gravidanza fisiologica, buona comprensione dello studio e disponibilità a partecipare alle visite di follow-up previste. I criteri di esclusione sono la presenza di diagnosi di patologie fetali, malattie croniche o genetiche, preeclampsia, ipertensione, diabete gestazionale, previsione di inibire l'allattamento e previsione di un trasferimento fuori regione nei successivi 12 mesi. Nel periodo compreso tra il 29 marzo 2021 il 31 ottobre 2021 sono state reclutate 201 donne.

Il campione finale selezionato per questa tesi è formato da N = 104 diadi madre-bambino.

I criteri di inclusione sono

- la partecipazione della diade al follow-up del primo mese;
- la raccolta della Schede Neonatologiche e del Questionario Alimenti al primo mese;

I criteri di esclusione sono

- l'assenza del Questionario Alimenti al reclutamento;
- l'assenza dei documenti relativi al parto e la Scheda Neonatologica alla nascita.

Al primo mese di vita del bambino viene svolto il paradigma della preferenza visiva. Per l'analisi di quest'ultimo, dal precedente campione è selezionato un sottocampione con N = 32 bambini. Sono esclusi 26 bambini che non hanno svolto correttamente il test o presentano uno stato di indisponibilità a partecipare (pianto o sonno) e 4 soggetti che, dopo la codifica, hanno mostrato un bias di posizione, ovvero con la durata dello sguardo verso una sola direzione all'85% sul totale delle fissazioni verso i volti.

3.2 Strumenti

3.2.1 Somministrazione Questionario Alimenti a T0

Il questionario Alimenti è costruito al fine di valutare la possibile esposizione delle donne agli interferenti endocrini derivante dalle abitudini alimentari riferite agli alimenti consumati (tipologia, quantità, frequenza di consumo) e modalità di preparazione e conservazione degli stessi. Il questionario si riferisce agli ultimi 6 mesi, ad eccezione di alcune domande riferite alle ultime 48h. Il questionario è stato somministrato alla donna al momento del reclutamento tramite Google Form sul supporto digitale fornito dallo staff di progetto. Un componente dello staff ha chiarito eventuali dubbi della donna durante la compilazione.

Il questionario ha l'obiettivo di raccogliere informazioni in merito alle abitudini alimentari e frequenza di consumo di alcune categorie di alimenti. In particolare:

- latte, formaggi e latticini di origine animale,
- bevande di origine vegetale,
- uova,
- cereali (alcuni esempi: pane, impasti con farine, pasta, riso, cereali per la colazione),
- ortaggi (crudi, cotti, legumi, zuppe e passati di verdura),
- grassi di origine vegetale e animale,
- prodotti a base di soia,
- carne (rossa, bianca e conservata),
- pesce (tonno, pesce spada, sardine, molluschi, crostacei, altri pesci e pesci conservati in lattina)
- frutta (fresca, secca, polpe, succhi e centrifugati)
- condimenti e salse (ad esempio: aceto, maionese, ketchup, senape),
- sughi pronti,
- caffè (in grani e macinato, in cialde e capsule, solubile)
- dolci e snack salati,

- bevande (acqua di rubinetto e in bottiglia, vino, birra, soft drink),
- alimenti surgelati.

Per ciascun alimento sono state indagate le seguenti caratteristiche con le rispettive possibilità di risposta:

1. il consumo: sì, no;
2. la frequenza di assunzione: meno di una volta al mese, 1-3 volte al mese, 1-3 volte alla settimana, 1 o più volte al giorno;
3. il tipo di confezionamento per la conservazione: plastica o polistirolo, metallo, tetrapak, vetro;
4. l'origine biologica: prevalentemente sì, prevalentemente no;
5. il consumo nelle ultime 48 ore (rispetto al momento della compilazione): sì, no;
6. la frequenza di assunzione nelle ultime 48 ore: mai, 1-2 volte, 3-4 volte, più di 4 volte;
7. la porzione di alimento consumata: piccola, media, grande (in accordo con le porzioni standard raccomandate nel documento Livelli di Assunzione di Riferimento di Nutrienti ed energia (LARN) per l'adulto (Società Italiana di nutrizione umana, 2014)).

Le risposte alle domande 1 e 5 fungono da filtro per le domande successive: quando la risposta è "no", le domande seguenti non vengono mostrate.

3.2.2 Creazione delle variabili ANIMALE, VEGETALE e CALORIE EXTRA

All'interno della categoria di alimenti di origine animale, si prendono in considerazione per questa tesi i seguenti tipi di alimenti:

- ❖ Formaggi, ricotta, latticini a base di latte animale
- ❖ Latte di origine animale
- ❖ Uova
- ❖ Grassi di origine animale
- ❖ Carne rossa
- ❖ Carne bianca

- ❖ Salumi
- ❖ Tonno
- ❖ Pesce spada
- ❖ Sardine
- ❖ Altri pesci
- ❖ Pesci contenuti in lattina

Per la categoria di alimenti di origine vegetale si considerano:

- ❖ Bevande di origine vegetale
- ❖ Cereali
- ❖ Frutta fresca
- ❖ Frutta secca
- ❖ Grassi di origine vegetale
- ❖ Ortaggi
- ❖ Prodotti a base di soia

Nella categoria degli alimenti assunti fuori dai pasti principali o al termine di questi ultimi si considerano i seguenti cibi:

- ❖ Barrette dolci
- ❖ Bibite
- ❖ Caramelle
- ❖ Cioccolato (anche in crema)
- ❖ Prodotti di pasticceria
- ❖ Snack fritti
- ❖ Snack salati

Per ogni alimento è stato attribuito un valore numerico da 0 a 5 relativo alle frequenze di assunzione, come riportato in Tabella 1.

MAI	0
MENO DI 1 VOLTA AL MESE	1
1-3 VOLTE AL MESE	2
1-3 VOLTE A SETTIMANA	3
1 O PIÙ VOLTE AL GIORNO	4

Tabella 1 - Attribuzione dei valori numerici da 0 a 4 alle risposte di frequenza di assunzione dell'alimento presenti nel Questionario Alimenti.

Per ottenere le variabili denominate ANIMALE, VEGETALE e PASTI EXTRA si procede calcolando la media dei punteggi di frequenza delle tre categorie di alimenti (origine animale, origine vegetale e fuori pasto) per ogni donna. I tre valori ottenuti indicano quanto frequentemente la singola donna assuma alimenti di origine animale, di origine vegetale e aggiuntivi ai pasti principali.

3.2.3 Scheda neonatologica alla nascita

La scheda neonatologica raccoglie informazioni relative ai genitori, al parto e al neonato. In particolare:

- Dati genitori: età, altezza (cm) e peso (kg) dei genitori (nel caso della madre, è richiesto il peso prima della gravidanza e al termine della stessa);
- Dati parto: età gestazionale (settimane), punteggio APGAR (ad 1, 5, 10 minuti dalla nascita, con punteggio da 1 a 10), modalità del parto (spontaneo, taglio cesareo elettivo, taglio cesareo urgente);
- Dati neonato: lunghezza (cm), peso (g), circonferenza cranica (cm), circonferenza addome (cm);

- Parametri di crescita aggiuntivi:

- stadi puberali in riferimento ai criteri di Tanner: peli ascellari (SP-A, da 1 a 3), pubarca (SP-P, da 1 a 5), bottoni mammari (SP-B dx e SP-B sx, da 1 a 5) come mostrato in Figura 2.

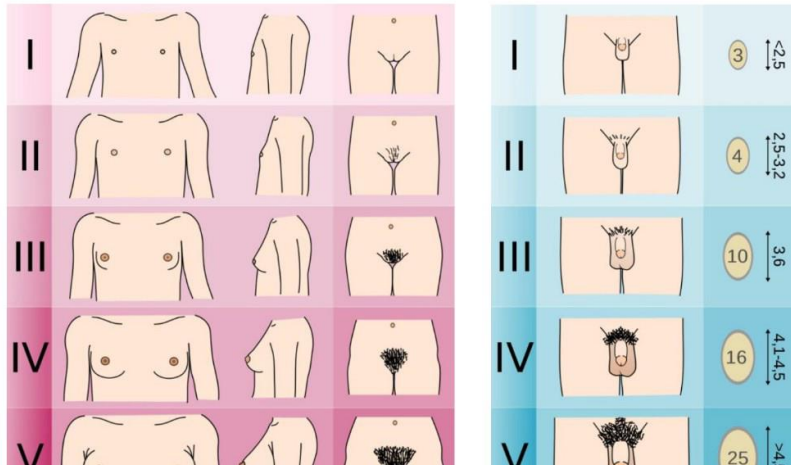


Figura 2 - Criteri di Tanner per gli stadi puberali e il volume testicolare (Sperling, 2008).

- distanza ano-genitale (Figura 3), misurata utilizzando un calibro apposito:
 - 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 misurata dal centro dell'ano alla base della commessura labiale posteriore.

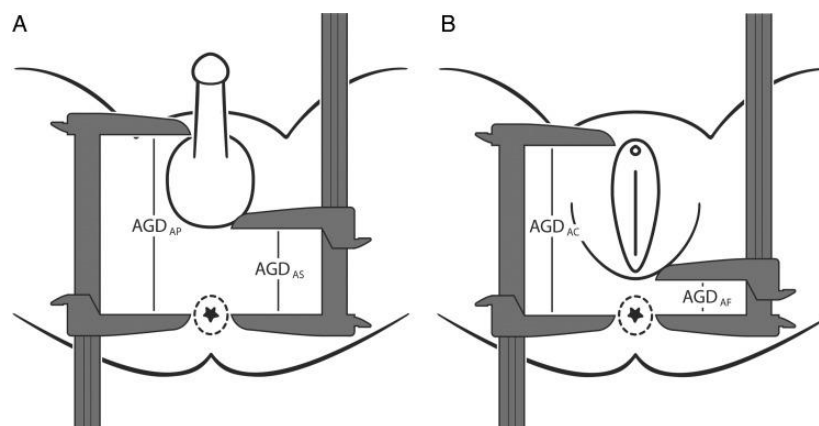


Figura 3 - Criteri di riferimento per la misura della distanza ano-genitale anteriore e posteriore nei due sessi (Swan, 2015).

- caratteristiche dei genitali:
 - femminili: presenza di sanguinamento (crisi genitale), caratteristiche dei genitali esterni di particolare rilevanza (ipertrofia del clitoride, imene imperforato, ecc.);
 - maschili: lunghezza pene (cm), localizzazione testicolo destro e sinistro (in sede scrotale, inguinale, non palpabile), volume testicolare (mm) misurato attraverso l'orchidometro di Prader, presenza di idrocele (minimo, medio, grave), ipospadia o iperpigmentazione dello scroto.

Durante la visita, se possibile, è stato raccolto un campione di urina del neonato attraverso un metodo non invasivo, ossia cogliendo il momento oppure ponendo un batuffolo di cotone nel pannolino. Alla madre sono stati consegnati due barattoli, con le istruzioni per la raccolta del campione di urina e di latte materni, da consegnare alla visita del primo mese.

3.2.4 Scheda neonatologica al primo mese

La scheda neonatologica al primo mese, effettuata dalla neonatologa, raccoglie:

- Data di nascita del bambino e data della visita;
- Parametri di crescita standard: lunghezza (cm), peso (g), circonferenza cranica (cm);
- Parametri di crescita aggiuntivi:
 - stadi puberali in riferimento ai criteri di Tanner (Figura 2)
 - distanza ano-genitale (Figura 3):
 - AGD nei maschi: AGDap e AGDas (vedi Scheda neonatologica alla nascita);
 - AGD nelle femmine: AGDac e AGDaf (vedi Scheda neonatologica alla nascita);
- caratteristiche genitali:
 - femminili: presenza di sanguinamento (crisi genitale), caratteristiche dei genitali esterni di particolare rilevanza (ipertrofia del clitoride, imene imperforato, ecc.);

- maschili: lunghezza pene (cm), localizzazione testicolo destro e sinistro (in sede scrotale, inguinale, non palpabile), volume testicolare (mm) misurato attraverso l'orchidometro di Prader, presenza di idrocele (minimo, medio, grave), ipospadia o iperpigmentazione dello scroto.

È stato raccolto, quando possibile, un campione di urina del neonato con lo stesso metodo non invasivo descritto nel paragrafo precedente. Sono stati consegnati due barattoli per la raccolta di latte e urina materni per l'appuntamento del terzo mese.

3.2.5 Paradigma della preferenza visiva

Durante il follow-up del primo mese è stato svolto il paradigma della preferenza visiva. Questo paradigma indaga la preferenza visiva mostrata dai neonati verso stimoli che hanno una configurazione simile a quella del volto umano rispetto a quelli che non hanno una configurazione con questa similarità (Valenza et al., 1996).

3.2.5.1 Stimoli

La procedura è stata svolta utilizzando stimoli raffiguranti un volto di donna fotografato ad alta risoluzione in bianco e nero (Valenza et al., 1996). Entrambi gli stimoli mostrano il volto a partire dal collo fino alla fronte, senza tratti specifici di genere. Uno dei due stimoli ha gli elementi centrali del volto ruotati di 180° e viene identificato con il nome di “volto inverso”, mentre l'altro è denominato “volto dritto” (Figura 4). Le dimensioni di entrambi gli stimoli sono 20x15 cm e vengono proiettate bilateralmente su uno schermo nero, ad 8 cm di distanza dal punto di fissazione centrale (Macchi Cassia et al., 2004).

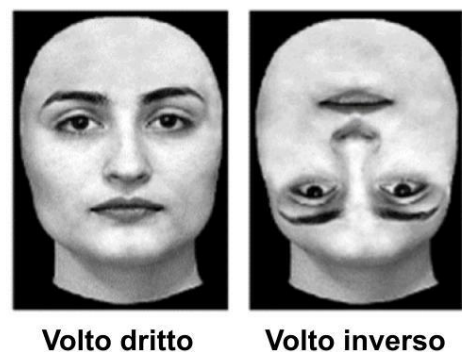


Figura 4- Stimoli utilizzati nel paradigma della preferenza visiva.

3.2.5.2 Apparato

Per lo svolgimento viene utilizzato il setting mostrato nella Figura 5. Il neonato è posto in braccio alla neonatologa, seduta sulla sedia, ad una distanza di 50 cm dallo schermo, per permettere la messa a fuoco (Warburg, 1991). Gli occhi del neonato sono allineati al centro dello schermo, dove prima di ogni trial compare uno stimolo (*attention getter*) per attirare l'attenzione del bambino verso il monitor.



Figura 5 – Setting per lo svolgimento del paradigma della preferenza visiva usato nel progetto Life MILCH.

3.2.5.3 Procedura

Per la somministrazione del paradigma è stato utilizzato il software Habit2, che presenta sullo schermo i due stimoli bilateralmente, a destra e a sinistra rispetto al centro. La posizione destra/sinistra degli stimoli viene controbilanciata invertendoli da un trial all'altro. La condizione usata in questo elaborato vede al primo trial il volto inverso a sinistra e volto dritto a destra, invertiti di posizione nel secondo trial. La procedura è definita *infant control*, in quanto la durata di ogni trial è determinata dal livello di attenzione del bambino verso gli stimoli presentati. Ogni trial viene quindi interrotto solo dopo che il neonato ha mostrato disinteresse verso gli stimoli per dieci secondi continuativi. Quando ciò si verifica, sullo schermo ricompare il cerchio rosso prima dell'inizio del secondo trial oppure si conclude la sessione, se sono stati svolti entrambi i trial. Lo sperimentatore, che non vede lo schermo e non conosce la posizione specifica degli stimoli ad ogni trial, registra in diretta gli spostamenti dello sguardo del bambino. L'attività del neonato è videoregistrata con un'apposita videocamera.

3.2.5.4 Codifica

Le registrazioni sono codificate offline tramite il software Virtual Dub 2 (Lee, 2001), che automaticamente suddivide il video in *frame*, ossia fotogrammi. Ogni frame ha una durata di 25msec. Il codificare riporta, per ogni fissazione del bambino verso gli stimoli, il frame di inizio e di fine. Viene

quindi calcolato il numero totale di fissazioni, il tempo totale, in secondi, per ogni fissazione ed il tempo totale di fissazioni verso gli stimoli a sinistra e destra. Inoltre, il codificatore riporta per ogni trial il frame di inizio e fine, da cui si ottiene, per ogni bambino, la durata totale di esposizione agli stimoli, in secondi.

3.2.6 Analisi statistica

I dati dei parametri di crescita raccolti tramite le schede neonatologiche alla nascita sono analizzati effettuando la regressione lineare, prendendo come regressori le variabili sulla dieta Animale e Vegetale. Nel caso della AGD, la regressione lineare è stata condotta separatamente per i due sessi, date le differenze anatomiche intrinseche a questa misurazione.

Per l'analisi del paradigma della preferenza visiva i tempi del test sono trasformati con la trasformazione logaritmica. Il paradigma della preferenza visiva è analizzato con l'ANOVA a misure ripetute tra soggetti applicata ai tempi di fissazione verso gli stimoli volto dritto e volto inverso, distinti nei due trial, e ponendo come covariata la frequenza di assunzione dei cibi calorici fuori pasto.

La durata delle fissazioni del bambino nei due trial è stata analizzata con la regressione lineare, utilizzando come regressore la variabile Calorie aggiuntive.

Per ogni regressione sono stati controllati i prerequisiti di applicabilità. Attraverso la distanza di Cook è stata controllata l'assenza di casi anomali.

I dati sono stati analizzati mediante il software R (R Core Team, Vienna, Austria). I package utilizzati sono: ez (Lawrence, 2016), lmtest (Zeileis & Hothorn, 2002) e ggplot2 (Wickham, 2016).

3.3 Procedura

Tutte le procedure previste nel progetto Life MILCH 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.

3.3.1 Reclutamento (T0)

Il reclutamento si è tenuto presso gli ambulatori del reparto di Maternità dell'Azienda Ospedaliero Universitaria di Parma, durante la Presa in Carico delle donne all'ultimo trimestre di gravidanza. Il personale ostetrico si è occupato dell'iniziale preselezione delle donne secondo i criteri di inclusione ed esclusione previsti da progetto. Successivamente, il personale di progetto ha illustrato il progetto e sue finalità. Le donne, che liberamente hanno aderito allo studio, hanno firmato il consenso informato e l'informativa al trattamento dati per la privacy. Successivamente sono stati raccolti dati anagrafici e di residenza, somministrati i questionari relativi ai propri stili di vita e abitudini alimentari degli ultimi 6 mesi e 48 ore e consegnato un contenitore per la raccolta di un campione di urina materna, da prelevare al termine dell'incontro e consegnare allo staff di progetto. In conformità con quanto riportato nell'informativa al trattamento dati e consenso informato, è stato attribuito un codice identificativo alla diade, valido per tutti gli incontri previsti. Al termine dell'incontro, alle donne sono stati consegnati una cartella contenente copia del consenso informato, foglio informativo e lettera per il medico di medicina generale per informarlo, su scelta volontaria, della partecipazione al progetto. Infine, alla donna era fornito un gadget di progetto.

3.3.2 Parto - nascita (T0)

Al momento del parto, il personale ospedaliero ha raccolto un campione di sangue cordonale e i dati raccolti tramite la griglia di rischio ostetrico¹ e il Certificato di Assistenza al Parto². Entro le prime 24h

¹ La griglia di rischio ostetrico contiene le informazioni sull'attuale gravidanza utili all'ostetrica per valutare il rischio di complicanze che potrebbero presentarsi durante il parto. Ad esempio: malformazioni uterine, età della donna inferiore a 16 anni o superiore a 40 anni, perdite ematiche nel terzo trimestre, gravidanza multipla, ecc.

² Il Certificato di Assistenza al Parto (CedAP) contiene dati clinici del parto, modalità del parto, età gestazionale ed eventuale presenza di complicanze avvenute durante il parto.

di vita del neonato, è stata effettuata la prima visita neonatologica con la compilazione della “Scheda neonatologica alla nascita”.

3.3.3 Visita al primo mese (T1)

Al primo mese di vita del neonato è stato svolto il primo follow-up della diade madre-bambino. Durante l'appuntamento, che è stato svolto a ± 3 giorni dal compimento del primo mese, è stato chiesto alla donna di compilare e firmare il consenso e l'informativa al trattamento dati relativi al minore e le sono stati consegnati copia del consenso, informativa dello studio sul minore e lettera per il pediatra di libera scelta. Sono stati somministrati alla madre questionari relativi ai propri stili di vita e abitudini alimentari in riferimento alle ultime 4 settimane dopo il parto e alle ultime 48 ore, e il questionario relativo al primo mese di vita e le ultime 48 ore del bambino. È stata svolta la visita neonatologica del neonato, con la compilazione della “Scheda neonatologica al primo mese” da parte della neonatologa ed è stato somministrato il paradigma della preferenza visiva. Sono stati raccolti i campioni biologici di urina del bambino, urina della madre e latte materno e/o artificiale, in base a quale fosse quello assunto prevalentemente dal bambino. A fine appuntamento, è stato consegnato alla donna un foglio con le istruzioni e i barattoli per la raccolta del latte e dell'urina materna da portare al successivo follow-up del terzo mese, e un attestato di partecipazione per il bambino.

4 RISULTATI

4.1 Analisi dell'effetto della dieta materna sulla crescita del neonato

La regressione lineare applicata alla variabile lunghezza alla nascita è stata effettuata su N = 103 soggetti. I neonati alla nascita sono lunghi in media 51.20 cm \pm 1.92. Durante la gravidanza, le donne hanno riferito di aver assunto alimenti di origine vegetale con una frequenza media di 2.53 \pm 0.61 e alimenti di origine animale con una frequenza media di 2.06 \pm 0.34.

La relazione tra la lunghezza del neonato alla nascita e la frequenza di assunzione di derivati vegetali non è risultata significativa ($b_1 = -0.28$, 95% CI [-0.90; 0.34]; $t(102) = -0.89$, $p = .375$), con un effetto nullo dei derivati vegetali sulla lunghezza del neonato ($R^2 = 0.008$, $R^2_{adj} = -0.002$).

La frequenza di assunzione dei derivati animali, invece, incide significativamente e negativamente sulla lunghezza ($b_1 = -1.12$, 95% CI [-2.22; -0.24]; $t(102) = -2.03$, $p = .045$), anche se l'effetto è piuttosto debole ($R^2 = 0.04$, $R^2_{adj} = 0.03$). L'effetto dei derivati animali sulla lunghezza del bambino alla nascita è mostrato nella Figura 6.

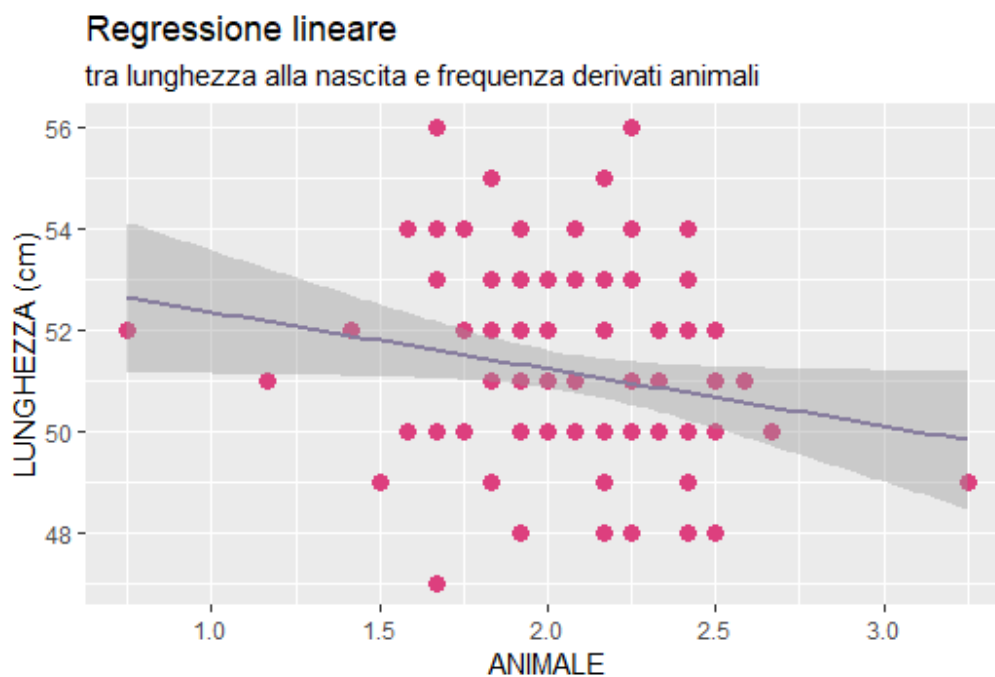


Figura 6- Il grafico rappresenta l'effetto che la frequenza di assunzione di derivati animali ha sulla lunghezza del bambino alla nascita.

La regressione lineare applicata alla variabile peso alla nascita è stata effettuata su N = 104 soggetti. Al momento della nascita il peso dei neonati ha una media di 3405.29 g \pm 396.27. Durante la gravidanza, le donne hanno riferito di aver assunto alimenti di origine vegetale e alimenti di origine animale rispettivamente con una frequenza media di 2.53 \pm 0.60 e 2.07 \pm 0.34.

Il prerequisito di normalità dei residui per l'applicabilità non è rispettato nella regressione lineare con predittore la variabile Vegetale, ma è garantita l'omoschedasticità.

La relazione tra il peso del neonato alla nascita e la frequenza di assunzione di derivati vegetali non è risultata significativa ($b_1 = -47.73$, 95% CI [-176.39; 80.94]; $t(103) = -0.74$, $p = .464$), con un effetto nullo dei derivati vegetali sul peso del neonato ($R^2 = 0.005$, $R^2_{adj} = -0.004$).

La frequenza di assunzione dei derivati animali, invece, incide in maniera significativa e negativa sul peso ($b_1 = -311.40$, 95% CI [-531.86; -90.99]; $t(103) = -2.80$, $p = .006$), ma con un effetto modesto ($R^2 = 0.07$, $R^2_{adj} = 0.06$). L'effetto dell'assunzione dei derivati animali in gravidanza sulla lunghezza del bambino alla nascita è mostrato nella Figura 7.

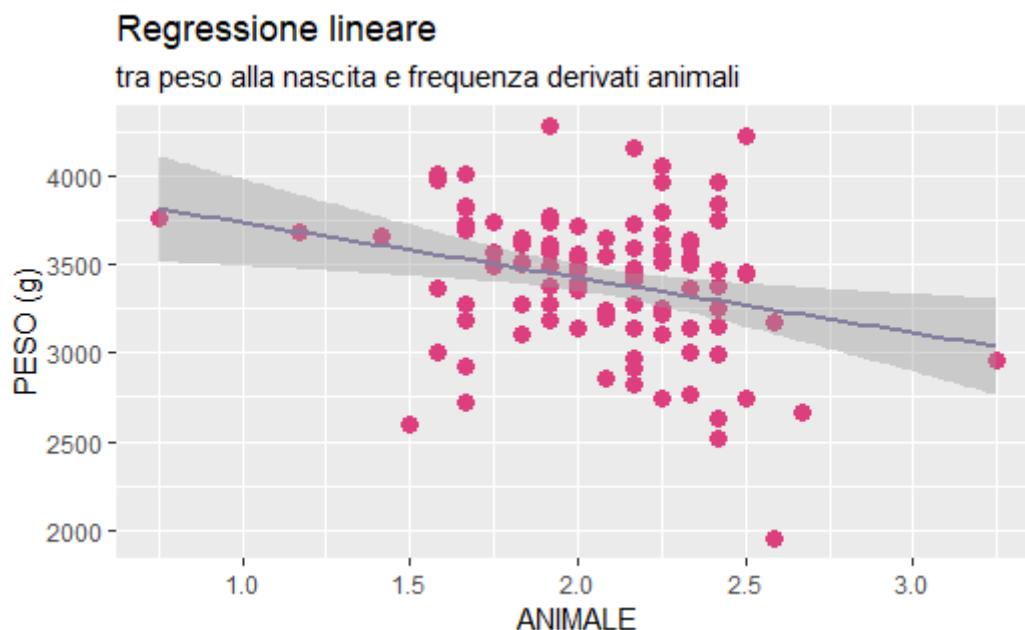


Figura 7 – Il grafico rappresenta l'effetto che la frequenza di assunzione di derivati animali ha sul peso del bambino alla nascita.

La regressione lineare applicata alla variabile circonferenza cranica alla nascita è stata effettuata su N = 102 soggetti. La circonferenza cranica dei neonati a T0 ha una media di 34.59 cm \pm 1.30. Le donne hanno riferito di aver assunto durante la gravidanza alimenti di origine vegetale e animale con una frequenza media rispettivamente di 2,54 \pm 0,60 e 2,07 \pm 0,34.

L'unico prerequisito di applicabilità non rispettato è la normalità dei residui in entrambe le regressioni lineari, ma è garantita l'omoschedasticità.

La relazione tra la circonferenza cranica del neonato alla nascita e la frequenza di assunzione di derivati vegetali non è risultata significativa ($b_1 = 0.12$, 95% CI [-0.30; 0.55]; $t(101) = 0.58$, $p = .566$), con un effetto nullo dei derivati vegetali sulla circonferenza cranica ($R^2 = 0.003$, $R^2_{adj} = -0.006$).

Anche la frequenza di assunzione dei derivati animali risulta essere non significativa sulla circonferenza cranica ($b_1 = -0.29$, 95% CI [-1.06; 0.47]; $t(101) = -0.77$, $p = .444$), con un effetto nullo ($R^2 = 0.005$, $R^2_{adj} = -0.004$).

Per analizzare la distanza ano-genitale si distinguono i neonati in base al sesso biologico.

La regressione lineare sulla distanza ano-genitale anteriore e posteriore è svolta su N = 52 femmine. Le neonate hanno una AGD 1 con media di 3.62cm \pm 0.62, mentre la media della AGD 2 è di 1.49 cm \pm 0.39. Le donne madri di neonate femmine hanno assunto alimenti di origine vegetale con una frequenza media di 2.55 \pm 0.62 e alimenti di origine animale con una frequenza media di 2.04 \pm 0.32. Nelle regressioni lineari per la AGD 1 è presente un caso estremo. L'eliminazione di quest'ultimo non cambia l'esito delle due regressioni, che risultano non significative.

La frequenza di assunzione di derivati vegetali non incide significativamente sulla AGD 1 delle neonate alla nascita ($b_1 = -0.23$, 95% CI [-0.50; 0.48]; $t(51) = -1.66$, $p = .103$), con un effetto molto debole ($R^2 = 0.05$, $R^2_{adj} = 0.03$).

Anche la frequenza di assunzione dei derivati animali risulta essere non significativa sulla AGD 1 ($b_1 = -0.08$, 95% CI [-0.63; 0.46]; $t(51) = -0.32$, $p = .751$), con un effetto nullo ($R^2 = 0.002$, $R^2_{adj} = -0.017$).

La relazione tra l'assunzione di derivati vegetali da parte della madre e la AGD 2 delle neonate alla nascita non risulta significativa ($b_1 = 0.02$, 95% CI [-0.16; 0.19]; $t(51) = 0.20$, $p = .842$), con un effetto nullo ($R^2 = 0.0008$, $R^2_{adj} = -0.002$).

Anche la frequenza di assunzione dei derivati animali risulta essere non significativa sulla AGD 2 ($b_1 = -0.08$, 95% CI [-0.42; 0.26]; $t(51) = -0.50$, $p = .623$), con un effetto nullo ($R^2 = 0.005$, $R^2_{adj} = -0.015$).

La regressione lineare sulla distanza ano-genitale anteriore e posteriore maschile è svolta su $N = 50$ maschi. I neonati hanno una AGD 1 con media di $4.37 \text{ cm} \pm 0.10$, mentre la media della AGD 2 è di $2.27 \text{ cm} \pm 0.08$. Le donne madri di neonati maschi hanno assunto alimenti di origine vegetale con una frequenza media di 2.49 ± 0.59 e alimenti di origine animale con una frequenza media di 2.08 ± 0.36 .

La frequenza di assunzione di derivati vegetali non incide significativamente sulla AGD 1 dei neonati alla nascita ($b_1 = 0.007$, 95% CI [-0.35; 0.36]; $t(49) = 0.04$, $p = .969$), con un effetto molto debole ($R^2 = 3.279e-05$, $R^2_{adj} = -0.02$).

Anche la frequenza di assunzione dei derivati animali risulta incidere in maniera non significativa sulla AGD 1 ($b_1 = -0.34$, 95% CI [-0.92; 0.25]; $t(49) = -1.17$, $p = .25$), con un effetto modesto ($R^2 = 0.03$, $R^2_{adj} = 0.007$).

L'assunzione di derivati vegetali da parte della madre non influenza significativamente la AGD 2 dei neonati alla nascita ($b_1 = -0.01$, 95% CI [-0.36; 0.34]; $t(49) = -0.07$, $p = .942$), con un effetto nullo ($R^2 = 0.0001$, $R^2_{adj} = -0.02$).

Anche la relazione tra frequenza di assunzione dei derivati animali e AGD 2 risulta essere non significativa ($b_1 = -0.59$, 95% CI [-1.10; 0.00]; $t(49) = 0.27$, $p = .05$), con un effetto nullo ($R^2 = 0.07$, $R^2_{adj} = 0.06$).

4.2 Paradigma della preferenza visiva

L'ANOVA a misure ripetute tra soggetti è stata applicata ai tempi di fissazione verso gli stimoli volto dritto e volto inverso, distinti nei due trial. In Tabella 7 si mostrano le distribuzioni dei tempi dei video e delle condizioni sperimentali in secondi, accompagnata da due grafici che rappresentano la distribuzione dei tempi in secondi per ogni condizione sperimentale (Figura 8, Figura 9).

La frequenza di assunzione degli alimenti calorici fuori dai pasti principali è stata inserita come covariata. Durante la gravidanza, le donne hanno riferito di aver assunto alimenti calorici fuori pasto con una frequenza media di 1.55 ± 0.79 .

Descrizione dei tempi di fissazione nel paradigma della preferenza visiva

TRIAL	/	1		2	
VOLTO	/	DRITTO	INVERSO	DRITTO	INVERSO
MEDIA (s)	90,59	103,22	111,06	94,88	53,19
DS	$\pm 72,98$	$\pm 76,92$	$\pm 69,04$	$\pm 85,04$	$\pm 42,98$

Tabella 2 - Descrizione dei tempi di fissazione nel paradigma della preferenza visiva totali e secondo le condizioni sperimentali.

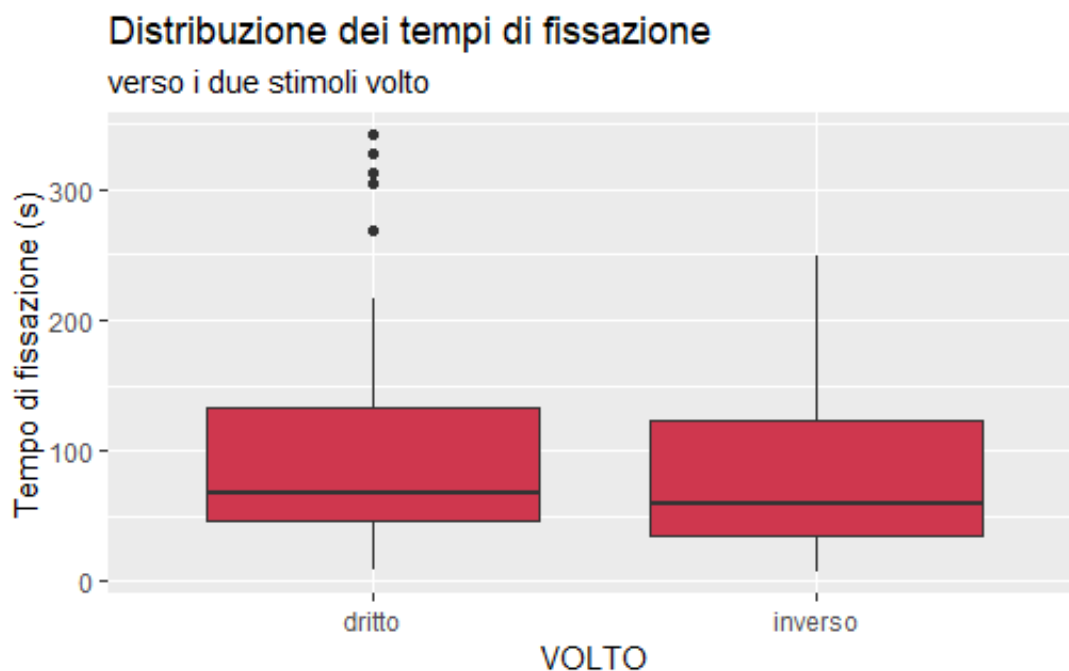


Figura 8 - Distribuzione del tempo di fissazione verso il volto dritto e verso il volto inverso.

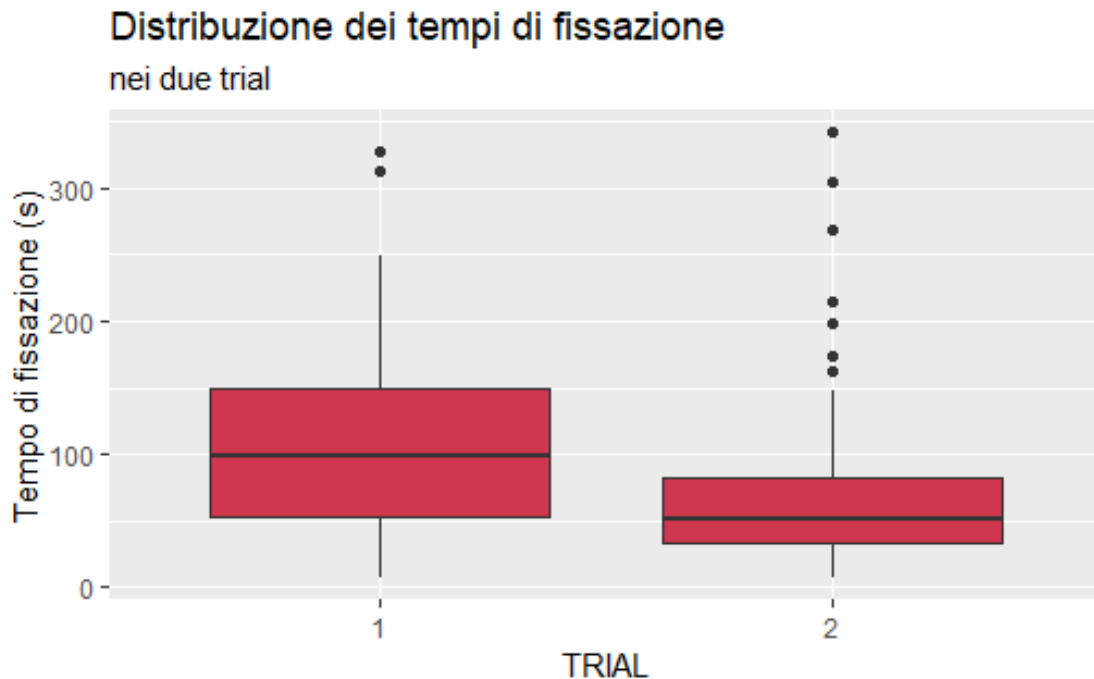


Figura 9 - Distribuzione del tempo di fissazione nel trial 1 e nel trial 2.

Non si osserva un effetto degli stimoli volto dritto e il volto inverso sul tempo di fissazione ($F [1; 30] = 0.07, p = .79 (0.01)$). Non si osserva alcun effetto di interazione significativo dovuto alla frequenza di assunzione di alimenti calorici fuori pasto alla presentazione dei due stimoli sul tempo di fissazione del bambino ($F [1;30] = 0.99, p = .326 (0.009)$).

I due trial hanno un effetto significativo sul tempo di fissazione del bambino ($F [1; 30] = 7.45, p = .010 (0.06)$). Il trial 2 dura in media 33.1 s meno del trial 1 ($t (30) = 3.00, p = 0.005$). Invece, l'interazione tra l'effetto del trial e l'assunzione dei cibi calorici non è significativa ($F [1;30] = 2.41, p = .131 (0.02)$).

Non c'è interazione significativa tra l'effetto degli stimoli volto e l'effetto dei trial ($F [1;30] = 0.009, p = .924 (0.00)$), e non è presente nemmeno un'interazione con l'assunzione degli alimenti calorici ($F [1; 30] = 0.53, p = .474 (0.004)$).

La relazione tra il tempo di fissazione, separato nei due trial, e l'assunzione di pasti calorici oltre al pasto principale viene indagata su N = 32 neonati.

La variabile tempi di fissazione al trial 1 ha una media di 214278 ms \pm 113643, mentre al trial due la media corrisponde a 148068 ms \pm 84815. Le donne di questi neonati hanno riferito che durante la gravidanza hanno assunto alimenti calorici fuori pasto con una frequenza media pari a 1,55 \pm 0.79.

La relazione tra il tempo di fissazione al primo trial e la frequenza di assunzione di calorie fuori pasto risulta non significativa ($b_1 = -0.006$, 95% CI [-0.12; 0.11]; $t(31) = -0.11$, $p = .915$), con un effetto nullo ($R^2 = 0.0003$, $R^2_{adj} = -0.03$).

La relazione tra il tempo di fissazione al secondo trial e la frequenza di assunzione di calorie fuori pasto risulta significativa e positiva ($b_1 = 0.13$, 95% CI [0.007; 0.25]; $t(31) = 2.15$, $p = .039$), con un effetto debole ($R^2 = 0.13$, $R^2_{adj} = 0.11$). L'effetto che l'assunzione degli alimenti calorici fuori pasto durante la gravidanza ha sul tempo di fissazione del bambino nel secondo trial è mostrato nella Figura 10.

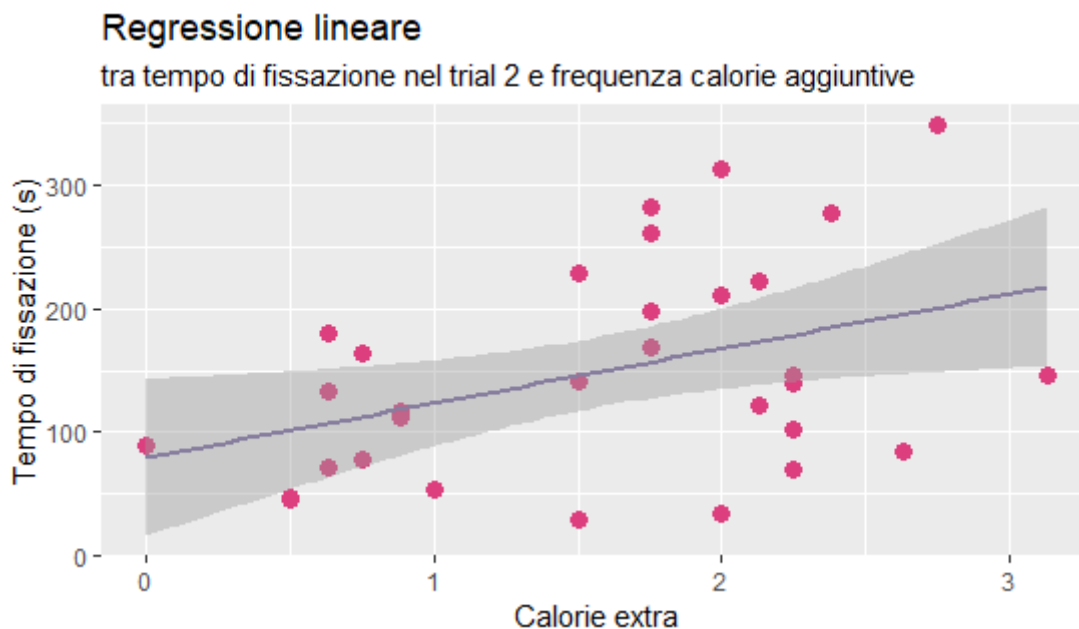


Figura 10 - Il grafico rappresenta l'effetto che la frequenza di assunzione di alimenti calorici fuori pasto ha sul tempo di fissazione del bambino nel secondo trial del paradigma della preferenza visiva.

5 DISCUSSIONE

Il progetto Life-MILCH ha realizzato la raccolta di una vasta gamma di dati, incluso lo stile di vita delle donne durante e dopo la gravidanza, lo stato fisiologico del neonato alla nascita, la crescita e lo sviluppo neurocomportamentale del bambino, con l'obiettivo di indagare l'esposizione agli IE e i possibili effetti sul bambino nel primo anno di vita. L'indagine è stata svolta attraverso differenti metodologie: raccolta di campioni biologici, compilazione di questionari, visita neonatologiche e test neurocomportamentali. Il progetto Life-MILCH prevede di realizzare un modello di rischio associando i dati delle abitudini di vita della madre con i livelli di IE rilevati nelle urine di madre e bambino e nel latte materno, correlando successivamente questi ultimi ai parametri di crescita fisiologica e sviluppo neurocomportamentale infantile. Per questo elaborato di tesi non sono ancora disponibili le analisi dei campioni biologici svolte dal laboratorio PeptLab del Dipartimento di Chimica dell'Università di Firenze che collabora con il progetto Life MILCH, per cui non è stata volta un'analisi in merito agli IE.

L'ipotesi dell'analisi dei dati da me raccolti durante la mia attività di tesi ha voluto, quindi, indagare se vi sia un effetto della dieta materna sullo sviluppo fisiologico e neurale del neonato. In particolare, ho valutato la presenza di un effetto della frequenza di assunzione, in gravidanza, degli alimenti di origine animale e quelli di origine vegetale sui parametri di crescita del neonato alla nascita. Inoltre, si ipotizza che l'assunzione di cibi calorici fuori pasto, durante la gravidanza, possa influenzare lo sviluppo percettivo del bambino osservato con il paradigma della preferenza visiva.

Il questionario Alimenti ha permesso di discriminare tre categorie di alimenti sulla base delle linee guida OMS (2001) e CREA (2019). Si osservano le frequenze medie con cui le donne assumono cibi di origine animale, di origine vegetale e calorici fuori dai pasti principali. Le donne del gruppo da me analizzato al tempo T0 assumono alimenti di origine vegetale con una frequenza di poco superiore a quella degli alimenti di origine animale. Il consumo degli alimenti di origine vegetale mediamente si avvicina a una frequenza di 2-3 volte alla settimana, mentre la frequenza di

assunzione di cibi di origine animale è mediamente più vicina a una volta a settimana. Le donne del gruppo dell'analisi a T1 mostrano una frequenza di assunzione degli alimenti calorici fuori dai pasti che è mediamente attestata tra 2-3 volte al mese e 1 volta a settimana.

In relazione allo sviluppo del bambino, valutato attraverso la scheda neonatologica, è stata analizzata la relazione tra dieta materna durante la gestazione e stadio di crescita del neonato alla nascita.

Le analisi hanno mostrato un effetto della frequenza di consumo degli alimenti di origine animale sui parametri di crescita del bambino al momento della nascita, in particolare per la lunghezza e il peso del neonato. Un maggior consumo di alimenti di origine animale della donna durante la gravidanza appare associato a una riduzione del peso e della lunghezza del neonato alla nascita. La categoria "alimenti di origine animale" include alimenti con caratteristiche nutrizionali differenti tra loro (diversi tipi di carne, di pesce, grassi, latte e uova), ma tutti caratterizzati da un maggiore contenuto di proteine rispetto agli alimenti di origine vegetale (CREA, 2019). Il consumo proteico elevato e non adeguatamente bilanciato da altri nutrienti nella dieta della donna durante la gestazione risulta associato a peso e lunghezza del neonato inferiori alla media, al momento della nascita (Sloan et al., 2001). L'effetto osservato nel presente studio appare quindi in linea con la letteratura esistente: una dieta in gravidanza caratterizzata da un maggior consumo di cibi di origine animale, maggiormente ricchi di proteine, si associa ad una crescita ridotta nel peso e nella lunghezza del bambino alla nascita. Questo dato è importante alla luce degli studi che vedono la ridotta crescita fetale come un fattore predittivo del rischio di sviluppare nell'arco della vita malattie croniche e di grande impatto sanitario, come, ad esempio, disturbi cardiovascolari e diabete (Arima & Fukuoka, 2020).

Nel nostro studio questo effetto emerge dall'eterogenea categoria degli alimenti di origine animale. È possibile ipotizzare che la riduzione nel peso e nella lunghezza del neonato non dipendano strettamente dal quantitativo di proteine, ma che vi possa anche essere un'interazione tra tutti i nutrienti contenuti negli alimenti di origine animale.

Non è emerso un effetto della frequenza di consumo degli alimenti di origine animale sulla circonferenza cranica e sulla distanza ano-genitale anteriore e posteriore, confermando i dati nella letteratura corrente. I parametri di crescita che risentono maggiormente della dieta materna sono infatti peso e lunghezza (Shiell et al., 2001). Questo potrebbe spiegare perché non è presente un effetto dell'assunzione degli alimenti di origine animale sulla circonferenza cranica e le distanze ano-genitali, parametri che sono stati invece associati ad effetti degli IE (Thankamony et al., 2015).

L'analisi dell'associazione della frequenza di assunzione di alimenti di origine vegetale con i parametri di crescita del bambino misurati alla nascita non indica effetti significativi. Ciò potrebbe essere dovuto al fatto che il consumo medio di alimenti di origine vegetale nel campione potrebbe non essere sufficientemente ampio. In letteratura, una dieta che include molti alimenti vegetali si ritiene che agisca da fattore protettivo contro esiti negativi della gravidanza (Sebastiani et al., 2019).

Lo sviluppo percettivo è stato esaminato tramite il paradigma della preferenza visiva che permette di osservare la preferenza visiva mostrata dai neonati verso stimoli che hanno una configurazione più simile a quella del volto umano rispetto a quelli che differiscono da questo tipo di configurazione (Valenza et al., 1996). L'analisi ha permesso di valutare il tempo di fissazione verso gli stimoli volto dritto o volto inverso, in due trial, per poi invertire le posizioni dei due stimoli ed escludere eventuali bias di posizione. Dalla nostra analisi non è emersa una preferenza del neonato verso il volto dritto o verso il volto inverso.

La letteratura indica che i neonati mostrano una preferenza visiva verso le configurazioni simili al volto umano, dovuta ad un meccanismo sottocorticale predisposto (Macchi Cassia et al., 2004), al fine di mantenere lo sguardo del neonato sullo stimolo volto, ricco di informazioni sociali, utili a garantire maggiori probabilità di sopravvivenza (Conte et al., 2019).

I dati ottenuti non concordano con la letteratura di riferimento, forse a causa dell'età del bambino al momento della somministrazione del test. Sulla base della letteratura corrente la preferenza visiva del neonato emerge nei primi giorni di vita ed è rivolta prevalentemente verso la madre, se sono presenti, oltre alle caratteristiche centrali del volto, anche informazioni sul contorno del volto (come

i capelli); tuttavia, la preferenza manifestata nei primi giorni di vita sembrerebbe essere guidata da un meccanismo differente da quello che guida la preferenza verso i volti nei bambini a tre mesi d'età (Pascalis et al., 1995). È possibile che ad 1 mese, età nella quale è stato somministrato il test, il bambino non abbia ancora sviluppato il meccanismo che permette la preferenza verso i volti umani guidata dagli elementi centrali del volto. Il meccanismo più generale per la preferenza verso i volti si svilupperebbe tra primo e terzo mese, per cui al momento della somministrazione del test ad 1 mese non sarebbe ancora presente.

Infine, è stato analizzato l'effetto dell'assunzione materna di zucchero con i tempi di fissazione del bambino durante il test. L'effetto degli zuccheri emerge sul tempo di fissazione nel secondo trial, ma non nel primo. All'aumentare della frequenza di assunzione di calorie fuori pasto aumenta il tempo di fissazione.

In letteratura il tempo di fissazione è utilizzato per misurare il controllo dell'attenzione ed è predittivo delle future abilità attentive del bambino (Papageorgiou et al., 2014). Non sono presenti studi sull'essere umano per quanto riguarda l'associazione tra l'assunzione di zuccheri in gravidanza e l'attenzione nel bambino. Gli studi su modelli di topo mostrano che l'assunzione aggiuntiva di zuccheri in gravidanza si associa a un calo dell'attenzione nella prole (Choi et al., 2015). È possibile che la differenza nella presenza dell'effetto tra i due trial sia riconducibile al fatto che l'attenzione tende a ridursi con il passare del tempo (Sarter et al., 2001), quindi le differenze nella capacità di mantenere l'attenzione emergerebbero dopo un tempo prolungato, ovvero nel secondo trial. L'aumento del tempo di fissazione dovrebbe corrispondere un'attenzione sostenuta che aumenta all'aumentare della frequenza di assunzione di zuccheri nelle donne in gravidanza. Questo risultato non è in accordo con la limitata letteratura presente su questo argomento. È possibile che l'assunzione di maggiori quantità di zuccheri in gravidanza renda il neonato più attivo, permettendogli di guardare più a lungo gli stimoli presentati. Ulteriori studi sarebbero necessari per un'indagine più approfondita su calorie e zuccheri semplici, assunti in aggiunta ai pasti principali, durante la gravidanza e il loro ruolo nell'influenzare le capacità attentive del neonato.

Questo risultato non è in accordo con la letteratura limitata presentata. Forse l'assunzione di più zuccheri in gravidanza rende il neonato più attivo, permettendogli di guardare più a lungo gli stimoli presentati. Si suggerisce un'indagine sull'essere umano più approfondita su calorie e zuccheri semplici, assunti in aggiunta ai pasti principali, durante la gravidanza e il loro ruolo nell'influenzare le capacità attentive del neonato.

In conclusione, attraverso i dati raccolti in merito a dieta materna e sviluppo del bambino in termini percettivi e fisiologici è stato possibile fare una preliminare descrizione degli effetti della dieta materna sullo sviluppo del bambino alla nascita e al primo mese. Nello studio è emerso un effetto della frequenza di assunzione di alimenti di origine animale sulla crescita del feto alla nascita ed un effetto dell'assunzione di calorie fuori pasto in gravidanza sul comportamento attentivo del bambino. L'alimentazione della madre nel periodo prenatale può portare ad effetti sullo sviluppo fisici e comportamento nel bambino alla nascita e primo mese di vita. Tuttavia, lo scopo di questa tesi è all'interno del progetto Life-MILCH, ancora in corso, che potrà meglio approfondire tali tematiche, con l'obiettivo di migliorare e promuovere il benessere madre-bambino.

Studi futuri potrebbero approfondire tale relazione considerando la composizione della dieta durante la gravidanza e i relativi effetti sui neonati, in un campione più ampio ed indagando stili alimentari differenti (dieta mediterranea, occidentale, vegetariana, vegana, ecc.). Maggiori conoscenze in questo campo potrebbero inoltre derivare da uno strumento specializzato e pratico da utilizzare per le donne in gravidanza o con neonati, come, ad esempio, Easy Diet Diary app proposta nello studio di Ambrosini et al. (2018). Esiste ormai un'ampia letteratura scientifica che dimostra l'impatto a lungo termine della dieta durante i periodi critici dello sviluppo, fetale o neonatale, secondo i concetti della DOHaD (Arima & Fukuoka, 2020). L'attenzione a tutti i fattori ambientali che agiscono sulla coppia madre-bambino durante la gravidanza e l'allattamento può rappresentare un efficace metodo di prevenzione e tutela della salute.

6 BIBLIOGRAFIA

- Ambrosini, G. L., Hurworth, M., Giglia, R., Trapp, G., & Strauss, P. (2018). Feasibility of a commercial smartphone application for dietary assessment in epidemiological research and comparison with 24-h dietary recalls. *Nutrition Journal*, *17*(1), 5. <https://doi.org/10.1186/s12937-018-0315-4>
- Arima, Y., & Fukuoka, H. (2020). Developmental origins of health and disease theory in cardiology. *Journal of Cardiology*, *76*(1), 14–17. <https://doi.org/10.1016/j.jjcc.2020.02.003>
- Barker, D. J. (1995). Fetal origins of coronary heart disease. *Bmj*, *311*, 171–174.
- Barker, D. J., & Osmond, C. (1986). Infant mortality, childhood nutrition, and ischaemic heart disease in England and Wales. *Lancet*, *1*, 1077–1081. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(86\)91340-1](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(86)91340-1)
- Barker, D. J. P. (2012). Developmental origins of chronic disease. *Public Health*, *126*(3), 185–189. <https://doi.org/10.1016/j.puhe.2011.11.014>
- Battaglia, F., & Thureen, P. (1997). Nutrition of the fetus and premature infant. *Nutrition*, *13*, 903–906.
- Bayley Scales Test III edizione*. (2009). Giunti Editore.
- Ben-Shlomo, Y., & Kuh, D. (2002). A life course approach to chronic disease epidemiology: conceptual models, empirical challenges and interdisciplinary perspectives. *International Journal of Epidemiology*, *31*(2), 285–293. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11980781>
- Boelli, T. (2006). *Dizionario etimologico* (A. Vallardi, Ed.).
- Buklijas, T. (2014). Food, growth and time: Elsie Widdowson's and Robert McCance's research into prenatal and early postnatal growth. *Studies in History and Philosophy of Science Part C: Studies in History and Philosophy of Biological and Biomedical Sciences*, *47*(PB), 267–277. <https://doi.org/10.1016/j.shpsc.2013.12.001>
- Burlingame, B., & Dernini, S. (2010). *Sustainable diets and biodiversity: directions and solutions for policy, research and action*.
- Canali, R., Galluzzo, L., Gandin, C., Ghirini, S., Ghiselli, A., la Vecchia, C., Pelucchi, C., Peperario, M., Poli, A., Ranaldi, G., Roselli, M., Scafato, E., & Ticca, M. (2020). Linee guida per una sana

alimentazione. Dossier scientifico. In *Linee guida per una sana alimentazione. Dossier scientifico*.

- Catena, A., Angela Muñoz-Machicao, J., Torres-Espínola, F. J., Martínez-Zaldívar, C., Diaz-Piedra, C., Gil, A., Haile, G., Gyorei, E., Molloy, A. M., Decsi, T., Koletzko, B., & Campoy, C. (2016). Folate and long-chain polyunsaturated fatty acid supplementation during pregnancy has long-term effects on the attention system of 8.5-y-old offspring: A randomized controlled trial. *American Journal of Clinical Nutrition*, *103*(1), 115–127. <https://doi.org/10.3945/ajcn.115.109108>
- Choi, C. S., Kim, P., Park, J. H., Gonzales, E. L. T., Kim, K. C., Cho, K. S., Ko, M. J., Yang, S. M., Seung, H., Han, S.-H., Ryu, J. H., Cheong, J. H., & Shin, C. Y. (2015). High sucrose consumption during pregnancy induced ADHD-like behavioral phenotypes in mice offspring. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, *26*(12), 1520–1526. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2015.07.018>
- Conte, S., Proietti, V., Quadrelli, E., Turati, C., & Cassia, V. M. (2019). Sibling experience prevents neural tuning to adult faces in 10-month-old infants. *Neuropsychologia*, *129*(March), 72–82. <https://doi.org/10.1016/j.neuropsychologia.2019.03.010>
- Costantini, W., & Calistri, D. (2013). *Ostetrica - Le basi scientifico culturali - La fisiologia della donna : realta' e confini - La patologia in ostetricia e ginecologia* (Piccin, Ed.).
- CREA. (2019). Linee guida per la sana alimentazione (Revisione 2018). In *Www.Crea.Gov.It*.
- de Groot, R., Hornstra, G., van Houwelingen, A., & Rumen, F. (2004). Effect of linolenic acid supplementation during pregnancy on maternal and neonatal polyunsaturated fatty acid status and pregnancy outcome. *Am J Clin Nutr*, *79*, 251–260.
- DeCapo, M., Thompson, J. R., Dunn, G., & Sullivan, E. L. (2019). Perinatal Nutrition and Programmed Risk for Neuropsychiatric Disorders: A Focus on Animal Models. *Biological Psychiatry*, *85*(2), 122–134. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2018.08.006>
- Fagan, J. F. (1984). The relationship of novelty preferences during infancy to later intelligence and later recognition memory. *Intelligence*, *8*(4), 339–346. [https://doi.org/10.1016/0160-2896\(84\)90016-3](https://doi.org/10.1016/0160-2896(84)90016-3)

- FeSIN. (2010). *Alimentazione e Nutrizione in Parole: Glossario di Alimentazione e Nutrizione Umana*.
- Godfrey, K. M. (2002). The role of the placenta in fetal programming - a review. *Placenta*, 23(Suppl A).
- Goldsmith, H., & Rothbart, M. (1993). The laboratory temperament assessment battery (LAB-TAB). *Wisconsin: University of Wisconsin*.
- Haggarty, P., Page, K., Abramovich, D., Ashton, J., & Brown, D. (1997). Long-chain polyunsaturated fatty acid transport across the perfused human placenta. *Placenta*, 18, 635-642.
- Hales, C. N., & Barker, D. J. (2001). The thrifty phenotype hypothesis. *Br Med Bull*, 60, 5–20.
- Herrera, E., & Amusquivar, E. (2000). Lipid metabolism in the fetus and the newborn. *Diabetes Metab Res Rev*, 16, 202–210.
- Huxley, R. R., Shiell, A. W., & Law, C. M. (2000). The role of size at birth and postnatal catch-up growth in determining systolic blood pressure. *Journal of Hypertension*, 18(7), 815–831.
<https://doi.org/10.1097/00004872-200018070-00002>
- Istituto Superiore di Sanità. (2018a). *La salute dalla A alla Z - Carboidrati*. ISSalute - Informarsi, Conoscere, Scegliere. <https://www.issalute.it/index.php/la-salute-dalla-a-alla-z-menu/c/carboidrati?highlight=WyJjYXJib2lkcmF0aSJd>
- Istituto Superiore di Sanità. (2018b). *La salute dalla A alla Z - Grassi alimentari*. ISSalute - Informarsi, Conoscere, Scegliere. <https://www.issalute.it/index.php/la-salute-dalla-a-alla-z-menu/l/lipidi?highlight=WyJncmFzc2kiXQ==#indicazioni-nutrizionali>
- Istituto Superiore di Sanità. (2018c). *La salute dalla A alla Z - Minerali e oligominerali*. ISSalute - Informarsi, Conoscere, Scegliere. <https://www.issalute.it/index.php/la-salute-dalla-a-alla-z-menu/m/minerali-e-oligoelementi#indicazioni-nutrizionali>
- Istituto Superiore di Sanità. (2018d). *La salute dalla A alla Z - Proteine ed enzimi*. ISSalute - Informarsi, Conoscere, Scegliere. <https://www.issalute.it/index.php/la-salute-dalla-a-alla-z-menu/p/proteine-ed-enzimi?highlight=WyJhbWlub2FjaWRpliwiZXNzZW56aWFsaSIsImFtaW5vYWNPpZGkgZXNzZW56aWFsaSJd>

- Istituto Superiore di Sanità. (2018e). *La salute dalla A alla Z - Vitamine*. ISSalute - Informarsi, Conoscere, Scegliere. <https://www.issalute.it/index.php/la-salute-dalla-a-alla-z-menu/v/vitamine?highlight=WyJ2aXRhbWluZSJd#classificazione>
- Istituto Superiore di Sanità. (2018f). *Vitamina B12 e folati: cosa sono e a cosa servono - ISSalute*. <https://www.issalute.it/index.php/stili-di-vita-e-ambiente-menu/alimentazione/vitamina-b12-e-folati#:~:text=La vitamina B12%2C a differenza,latte e nei suoi derivati.>
- Istituto Superiore di Sanità. (2021a). *Contenuto di iodio negli alimenti - Istituto Superiore di Sanità*. https://www.iss.it/contenuto-di-iodio-negli-alimenti/-/asset_publisher/oLDj2thAueSX/content/contenuto-di-iodio-negli-alimenti-1
- Istituto Superiore di Sanità. (2021b). *Toxoplasmosi - Istituto Superiore di Sanità - epiCentro.iss.it*. <https://www.epicentro.iss.it/toxoplasmosi/#:~:text=La toxoplasmosi è ad alto, o la morte in utero.>
- Jensen, C. L. (2006). Effects of n-3 fatty acids during pregnancy and lactation. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 83(6), 1452S-1457S. <https://doi.org/10.1093/ajcn/83.6.1452S>
- Kalhan, S. C. (1998). Protein Metabolism in Pregnancy. In *Principles of Perinatal—Neonatal Metabolism* (pp. 207–220). Springer New York. https://doi.org/10.1007/978-1-4612-1642-1_11
- Kwon, E. J., & Kim, Y. J. (2017). What is fetal programming?: a lifetime health is under the control of in utero health. *Obstetrics & Gynecology Science*, 60(6), 506–519. <https://doi.org/10.5468/ogs.2017.60.6.506>
- la Rocca, C., Maranghi, F., Tait, S., Tassinari, R., Baldi, F., & Bottaro, G. (2018). The LIFE PERSUADED project approach on phthalates and bisphenol A biomonitoring in Italian mother-child pairs linking exposure and juvenile diseases. *Environ Sci Pollut Res*, 25, 25618–25625. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-2660-4>
- Landecker, H. (2011). Food as exposure: Nutritional epigenetics and the new metabolism. *BioSocieties*, 6(2), 167–194. <https://doi.org/10.1057/biosoc.2011.1>
- Lawrence, M. A. (2016). *ez: Easy Analysis and Visualization of Factorial Experiments* (4.4-0). <http://github.com/mike-lawrence/ez>
- Lee, A. (2001). *Virtual Dub* (No. 2). GNU General Public License. <http://virtualdub2.com/>

- Leon, D. A., Lithell, H. O., Vagero, D., Koupilova, I., Mohsen, R., Berglund, L., Lithell, U.-B., & McKeigue, P. M. (1998). Reduced fetal growth rate and increased risk of death from ischaemic heart disease: cohort study of 15 000 Swedish men and women born 1915-29. *BMJ*, *317*(7153), 241–245. <https://doi.org/10.1136/bmj.317.7153.241>
- Luukkonen, P. K., Sädevirta, S., Zhou, Y., Kayser, B., Ali, A., Ahonen, L., Lallukka, S., Pelloux, V., Gaggini, M., Jian, C., Hakkarainen, A., Lundbom, N., Gylling, H., Salonen, A., Orešič, M., Hyötyläinen, T., Orho-Melander, M., Rissanen, A., Gastaldelli, A., ... Yki-Järvinen, H. (2018). Saturated Fat Is More Metabolically Harmful for the Human Liver Than Unsaturated Fat or Simple Sugars. *Diabetes Care*, *41*(8), 1732–1739. <https://doi.org/10.2337/dc18-0071>
- Macchi Cassia, V., Turati, C., & Simion, F. (2004). Can a nonspecific bias toward top-heavy patterns explain newborns' Face preference? *Psychological Science*, *15*(6), 379–383. <https://doi.org/10.1111/j.0956-7976.2004.00688.x>
- Moore, V. M., Davies, M. J., Willson, K. J., Worsley, A., & Robinson, J. S. (2004). Dietary Composition of Pregnant Women Is Related to Size of the Baby at Birth. *The Journal of Nutrition*, *134*, 1820–1826. <https://doi.org/10.1093/jn/134.7.1820>
- Papageorgiou, K. A., Smith, T. J., Wu, R., Johnson, M. H., Kirkham, N. Z., & Ronald, A. (2014). Individual Differences in Infant Fixation Duration Relate to Attention and Behavioral Control in Childhood. *Psychological Science*, *25*(7), 1371–1379. <https://doi.org/10.1177/0956797614531295>
- Pascalis, O., de Schonen, S., Morton, J., Deruelle, C., & Fabre-Grenet, M. (1995). Mother's face recognition by neonates: A replication and an extension. *Infant Behavior and Development*, *18*(1), 79–85. [https://doi.org/10.1016/0163-6383\(95\)90009-8](https://doi.org/10.1016/0163-6383(95)90009-8)
- Rao, P. Ns., Shashidhar, A., & Ashok, C. (2013). In utero fuel homeostasis: Lessons for a clinician. *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism*, *17*(1), 60. <https://doi.org/10.4103/2230-8210.107851>
- Rush, D. (1989). Effects of changes in maternal energy and protein intake during pregnancy, with special reference to fetal growth. *Fetal Growth, Table 2*, 203–229. https://doi.org/10.1007/978-1-4471-1707-0_21

- Sabaté, J., & Soret, S. (2014). Sustainability of plant-based diets: back to the future. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 100(suppl_1), 476S-482S. <https://doi.org/10.3945/ajcn.113.071522>
- Sarter, M., Givens, B., & Bruno, J. P. (2001). The cognitive neuroscience of sustained attention: where top-down meets bottom-up. *Brain Research Reviews*, 35(2), 146–160. [https://doi.org/10.1016/S0165-0173\(01\)00044-3](https://doi.org/10.1016/S0165-0173(01)00044-3)
- Satija, A., & Hu, F. B. (2018). Plant-based diets and cardiovascular health. *Trends in Cardiovascular Medicine*, 28(7), 437–441. <https://doi.org/10.1016/j.tcm.2018.02.004>
- Sebastiani, G., Barbero, A. H., Borrás-Novel, C., Casanova, M. A., Aldecoa-Bilbao, V., Andreu-Fernández, V., Tutusaus, M. P., Martínez, S. F., Roig, M. D. G., & García-Algar, O. (2019). The effects of vegetarian and vegan diet during pregnancy on the health of mothers and offspring. *Nutrients*, 11(3), 1–29. <https://doi.org/10.3390/nu11030557>
- Shiell, A. W., Campbell-Brown, M., Haselden, S., Robinson, S., Godfrey, K. M., & Barker, D. J. (2001). High-meat, low-carbohydrate diet in pregnancy: relation to adult blood pressure in the offspring. *Hypertension*, 38(6), 1282–1288.
- Sloan, N. L., Lederman, S. A., Leighton, J., Himes, J. H., & Rush, D. (2001). The effect of prenatal dietary protein intake on birth weight. *Nutrition Research*, 21(1–2), 129–139. [https://doi.org/10.1016/S0271-5317\(00\)00258-X](https://doi.org/10.1016/S0271-5317(00)00258-X)
- Società Italiana di nutrizione umana. (2014). *Livelli di Assunzione di Riferimento di Nutrizione ed energia per la popolazione italiana (SINU-INRAN, Ed.; IV)*.
- Soliman, G. A. (2019). Dietary fiber, atherosclerosis, and cardiovascular disease. *Nutrients*, 11(5).
- Sperling, M. (2008). *Pediatric endocrinology*. Saunders/Elsevier.
- Swan, S. H. (2015). First trimester phthalate exposure and anogenital distance in newborns. *Human Reproduction*, 30(4), 963–972.
- Taylor, R. M., Fealy, S. M., Bisquera, A., Smith, R., Collins, C. E., Evans, T. J., & Hure, A. J. (2017). Effects of nutritional interventions during pregnancy on infant and child cognitive outcomes: A systematic review and meta-analysis. *Nutrients*, 9(11). <https://doi.org/10.3390/nu9111265>
- Team, R. C. (2022). *R: A language and environment for statistical computing*. (3.6.1). Foundation for Statistical Computing.

- Thankamony, A., Pasterski, V., Ong, K., Acerini, C. L., & Hughes, I. A. (2015). Anogenital distance as a marker of androgen exposure in humans. *Andrology*.
- The National Archives. (2019). *Office of Population Censuses and Surveys and predecessors, Statistical Branch: Population and Medical Statistics: Correspondence and Papers*.
<https://discovery.nationalarchives.gov.uk/details/r/C13351>
- Thornton, K., & Villamor, E. (2015). Nutritional Epidemiology. *Encyclopedia of Food and Health, March*, 104–107. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00494-3>
- 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.
- Tuso, P. J., Ismail, M. H., Ha, B. P., & Bartolotto, C. (2013). Nutritional update for physicians: plant-based diets. *The Permanente Journal*, 17(2), 61–66. <https://doi.org/10.7812/TPP/12-085>
- Valenza, E., Simon, F., Cassia, V. M., & Umiltà, C. (1996). Face preference at birth. *Journal of Experimental Psychology: Human Perception and Performance*, 22(4), 892–903.
doi:<https://doi.org/10.1037/0096-1523.22.4.892>
- Vuori, L., Clement, J., Mora, J., Christiansen, N., Wagner, M., & Herrera, M. G. (1979). Nutritional supplementation and outcome of pregnancy. II. Visual habituation at 15 days. *Am J Clin Nutr*, 32, 463–469.
- Wang, L., & Xu, R. (2007). The effects of perinatal protein malnutrition on spatial learning and memory behaviour and brain- derived neurotrophic factor concentration in the brain tissue in young rats. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 16 Suppl 1, 467–472.
- Wickham, H. (2016). *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. (3.2.1). Springer-Verlag.
<https://doi.org/ISBN 978-3-319-24277-4>
- World Health Organization. (2001). Healthy eating during pregnancy and breastfeeding : booklet for mothers. *World Health Organisation Geneva, Switzerland*, 1–26.
https://www.fhs.gov.hk/english/health_info/woman/20036.html
- Wu, K., Wu, C.-W., Tain, Y.-L., Huang, L.-T., Chao, Y.-M., & Hung, C.-Y. (2016). Environmental stimulation rescues maternal high fructose intake-impaired learning and memory in female

offspring: Its correlation with redistribution of histone deacetylase 4. *Neurobiology of Learning and Memory*, 130, 105–117.

Zeileis, A., & Hothorn, T. (2002). *Diagnostic Checking in Regression Relationships*. (0.9-37). R News. <https://cran.r-project.org/doc/Rnews/>