

Il paradigma della psiconeuroendocrinoimmunologia (PNEI)

Introduzione

La psiconeuroendocrinoimmunologia (PNEI) studia le relazioni bidirezionali tra psiche e sistemi biologici (Bottaccioli, 2014); tra questi si interessa in particolare al sistema nervoso, endocrino e immunitario. Oggetto d'indagine della PNEI è quindi come questi biosistemi influenzano l'attività psichica e il comportamento e viceversa. La disciplina nasce a cavallo tra gli anni Settanta e Ottanta, grazie a una serie di esperimenti pionieristici che hanno dimostrato la fitta rete di comunicazione tra i tre sistemi, rivoluzionando la concezione di organismo, fino a quel momento accettata, che vedeva il sistema nervoso centrale come una struttura statica e inaccessibile ai segnali immunitari e il sistema immunitario come un agente difensivo autonomo e auto-regolantesi. La PNEI fa proprio un paradigma sistemico che integra la dimensione microscopica (network immunitari, endocrini, nervosi) con quella macroscopica (interazione individuo-contesto sociale) e costituisce un approccio multidisciplinare che permette di studiare l'uomo nella sua unità, interezza e complessità, superando qualsiasi forma di riduzionismo che deriva dall'eccessiva specializzazione del sapere. Nel fare ciò, la PNEI si pone inoltre come tentativo di superamento dell'annoso e insoluto dibattito sui rapporti intercorrenti tra mente e corpo come sostanze ontologicamente distinte. Qui di seguito vengono riportate le principali evidenze scientifiche che dimostrano l'esistenza di reciproche interazioni tra i vari sistemi biologici, dopodiché, in quest'ottica, verrà approfondito il tema dello stress nella prima infanzia.

Relazioni tra il sistema nervoso e il sistema immunitario

Nella prima metà degli anni Settanta, lo psicologo sperimentale Robert Ader e l'immunologo Nicholas Cohen dimostrarono che il cervello è in grado di influenzare il sistema immunitario, usando il modello del condizionamento classico o pavloviano. Nello studio, alcuni ratti assumevano una soluzione zuccherata (stimolo condizionato) a cui era associata l'iniezione di ciclofosfamide (stimolo incondizionato), un farmaco immunosoppressore in grado di indurre spiacevoli effetti gastrointestinali. La risposta di evitamento era quanto più forte quanto maggiore era il volume della soluzione assunta. La ripetuta presentazione della soluzione zuccherata senza l'iniezione della sostanza provocava l'estinzione della risposta di evitamento. Inaspettatamente, i due studiosi osservarono che durante le prove di estinzione alcuni animali morivano, e il tasso di mortalità era direttamente proporzionale alla quantità di soluzione ingerita. Ciò dimostrava che, dopo il condizionamento, il solo zucchero induceva un'immunosoppressione, e che quindi il cervello era in qualche modo connesso al sistema immunitario (Ader, 2000). Besedovsky, agli inizi degli anni Ottanta, dimostrava la comunicazione inversa, cioè quella tra immunità e cervello, facendo notare

come la somministrazione della citochina interleuchina-1 (IL-1) nei ratti attivava l'asse ipotalamo-ipofisi-surrene, inducendo l'aumento dell'ormone adrecorticotropo (ACTH) e dei glucocorticoidi nel sangue (Besedovsky, 1986). Ricerche successive hanno individuato gli specifici pathways attraverso cui sistema immunitario e nervoso comunicano: studi decennali di David Felten hanno dimostrato l'estesa innervazione ("hardwiring") degli organi linfoidei primari (timo, midollo osseo), secondari (linfonodi, milza) e delle cellule immunitarie da parte delle fibre del sistema nervoso autonomo rilascianti catecolamine, acetilcolina e neuropeptidi. Fibre nervose e cellule immunitarie formano vere e proprie sinapsi, chiamate "giunzioni neuroimmunitarie". A tal proposito, un ruolo di rilievo è svolto dai plessi di fibre che avvolgono i vasi arteriosi che penetrano negli organi linfoidei e si connettono con le cellule mastoidee (o mastociti) adiacenti alla vascolatura (Bottaccioli, 2014). Queste cellule contengono granuli ricchi di istamina, che sono in grado di rilasciare nei tessuti e nel sangue provocando infiammazione (Bottaccioli, 2005). Una via importante di comunicazione tra sistema nervoso e immunitario è rappresentata dal nervo vago, che da solo comprende la maggior parte delle fibre parasimpatiche. Originatosi dal bulbo, raggiunge gli organi viscerali e permette la comunicazione bidirezionale tra questi e il sistema nervoso centrale grazie alle fibre afferenti e efferenti di cui è composto. Finora il suo ruolo era legato all'equilibrio del sistema neurovegetativo e quindi alla sua funzione parasimpatica, cioè alla capacità di contrastare l'eccessiva attivazione prodotta dal sistema nervoso simpatico sui vari organi (Bottaccioli, 2014). In anni recenti è stato invece scoperto un suo importante ruolo immunomodulatorio responsabile del cosiddetto "riflesso infiammatorio", che possiede una componente immunosensitiva e una componente immunosoppressiva: la prima si riferisce alle fibre vagali afferenti, in grado di rilevare i livelli di citochine pro-infiammatorie prodotte dalle cellule immunitarie e inviarli al nucleo del tratto solitario (Webster, 2009). I neuroni di questo nucleo proiettano informazioni al nucleo motorio dorsale del vago, da cui origina la maggior parte delle fibre vagali efferenti pregangliari, responsabili della componente immunosoppressiva. La branca efferente del vago è nota anche come 'cholinergic anti-inflammatory pathway' poiché utilizza come principale neurotrasmettitore l'acetilcolina. Le cellule immunitarie esprimono infatti, tra i vari recettori, anche quelli per l'acetilcolina e l'esposizione a questo neurotrasmettitore provoca l'inibizione della sintesi di citochine pro-infiammatorie (IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF), ma non di quella di citochine anti-infiammatorie come IL-10 (ricordiamo che le citochine sono proteine che costituiscono il principale mezzo di comunicazione tra le cellule immunitarie e di mediazione della loro risposta). In particolare, sembra che sia il recettore nicotinico con subunità $\alpha 7$ ($\alpha 7nAChR$) il responsabile dell'immunosoppressione, poiché topi mancanti per quel tipo di recettore non mostrano l'inibizione della sintesi di citochine come TNF su stimolazione elettrica del vago (Webster, 2009). Quella rappresentata dal nervo vago è tuttavia solo

una delle due vie principali che le citochine percorrono per arrivare al cervello: oltre a quella nervosa esiste infatti anche un'importante via umorale, che viaggia con la circolazione sanguigna (Bottaccioli, 2014). Questa porta le citochine circolanti a contatto con la barriera ematoencefalica, rappresentata dalla congiunzione stretta tra le cellule endoteliali dei vasi sanguigni del sistema nervoso centrale che impedisce il flusso di molecole di grandi dimensioni, potenzialmente dannose, verso il cervello, tra cui le citochine (S. Marc Breedlove, 2009). Queste hanno tuttavia a disposizione una serie di possibilità per aggirare la barriera: possono entrare in aree cerebrali in cui essa è lacunosa o assente, come l'ipofisi e gli organi circumventricolari (eminenza mediana, organo vascoloso della lamina terminale, area postrema ecc.), o passare grazie a specifici sistemi di trasporto; citochine infiammatorie come la IL-1, IL-6 e TNF utilizzano queste modalità di accesso per segnalare al cervello la presenza di infezioni e stimolare i neuroni dell'area preottica dell'ipotalamo a indurre lo stato febbrile, e quindi sonno, riduzione dell'appetito, innalzamento della temperatura (tutti meccanismi che potenziano la risposta immunitaria) (Steinman, 2004). Le citochine possono tuttavia anche indurre la produzione, al di là della barriera, di mediatori infiammatori come la prostaglandina (PGE2), l'ossido nitrico o altre citochine (Bottaccioli, 2014; B.M. Lidy Verburg-van Kemenade, 2017). In effetti, è stato dimostrato che due tipi di cellule gliali, gli astrociti e cellule microgliali (o microglia), sono in grado di produrre citochine come la IL-1, IL-6, TNF- α . Le cellule microgliali sono macrofagi migrati nel cervello in epoca prenatale, e quindi costituiscono delle vere e proprie cellule immunitarie che scannerizzano la matrice extracellulare alla ricerca di danni da riparare, infezioni o detriti da eliminare (Andrea Danese S. J., 2017). Ipotalamo, ippocampo, talamo e gangli della base esprimono normalmente basse quantità di citochine infiammatorie, che rientrano nei normali processi di attivazione cerebrale (ad esempio facilitano i meccanismi molecolari sottostanti alla plasticità cerebrale e stimolano la neurogenesi ippocampale). E' chiaro che se questo delicato equilibrio viene interrotto, ad esempio attraverso un marcato aumento dei segnali citochinici di tipo infiammatorio, ne deriveranno conseguenze dannose per il cervello. Le scoperte qui riportate mettono in discussione un dogma centenario della biomedicina, ovvero l'inaccessibilità del cervello agli altri sistemi, in particolare a quello immunitario (Bottaccioli, 2014).

Relazioni tra il sistema endocrino e il sistema immunitario

Numerose ricerche, tra cui quelle condotte da Edween Blalock, hanno dimostrato che il linfocita, i macrofagi e altre cellule immunitarie sono dotati di recettori per i principali neurotrasmettitori, neuropeptidi e ormoni e sono in grado a loro volta di produrre ormoni e altre sostanze, come le citochine, che agiscono sul sistema neuroendocrino (Bottaccioli, 2005). Già Besedovsky aveva

mostrato come l'IL-1 influenzasse l'asse ipotalamo-ipofisi-surrene (HPA); questa citochina, come la IL-6, induce infatti la produzione dell'ormone di rilascio della corticotropina (CRH) a livello dell'ipotalamo dopo aver bypassato la barriera ematoencefalica attraverso gli organi circumventricolari. Il CRH induce dunque il rilascio dell'ormone adrenocorticotropo (ACTH) a livello dell'adenipofisi, e questo il rilascio di corticosteroidi (uno su tutti il cortisolo) da parte delle ghiandole surrenali. Citochine come la IL-2 e il TNF- α sembrano invece stimolare il rilascio dell'ACTH direttamente a livello dell'ipofisi (Chryssikopoulos, 1997). Il cortisolo, attraverso un meccanismo a feedback negativo, inibisce l'ulteriore rilascio di CRH da parte dell'ipotalamo e ha un effetto generalmente soppressivo della risposta immunitaria (come vedremo meglio successivamente). E' opportuno notare che, anziché rilasciare citochine, le cellule immunitarie possono produrre e rilasciare direttamente CRH e ACTH (Bottaccioli, 2005). Oltre che con l'asse ipotalamo-ipofisi-surrene, il sistema immunitario interagisce anche con altri importanti assi neuroendocrini: le cellule immunitarie posseggono recettori per l'ormone di rilascio delle gonadotropine (GnRH) e sono in grado di produrre l'ormone luteinizzante (LH), entrambi elementi cruciali all'interno dell'asse ipotalamo-ipofisi-gonadi, e possono esporre sulla loro superficie e produrre rispettivamente i recettori per l'ormone di rilascio della tireotropina (TRH) e l'ormone tireotropo (TSH) per regolare l'asse ipotalamo-ipofisi-tiroide; le cellule immunitarie intervengono anche nella regolazione del sistema somatotropico poichè esprimono recettori per l'ormone della crescita o somatotropo (GH) e per il suo fattore ipotalamico rilasciante (GhRH); possono produrre anche loro stesse il GH, che sembra avere una funzione stimolante della risposta immunitaria (Bottaccioli, 2005). Le cellule immunitarie sono anche in grado di rilasciare nei siti di infiammazione endorfine e encefaline, oppioidi endogeni implicati nella modulazione della nocicezione.

A conclusione di quanto finora mostrato, possiamo constatare che le distinzioni tra citochina, neurotrasmettitore e ormone sono meno nette che in passato, dal momento che ciascuno di questi tre mediatori viene prodotto da cellule anche molto diverse tra loro; quello che emerge dal quadro tracciato è che il linguaggio utilizzato dal nostro organismo è unitario, riconoscibile e utilizzabile da tutti i reparti del network neuro-endocrino-immunologico.

Gli effetti dello stress nell'infanzia dal punto di vista della PNEI

Introduzione

Nel 2010 l'Organizzazione mondiale della sanità ha stimato che il 39% della popolazione mondiale è stata esposta a una o più "early life adversity" (ELA); con questo termine si intende un insieme di esperienze avverse e stressanti subite in infanzia (separazione dei genitori, maltrattamento o abuso

subito dal bambino, basse condizioni socioeconomiche ecc.) che si sono dimostrate importanti fattori di rischio per lo sviluppo di disturbi sia fisici che mentali in età successive (Martha M.C. Elwenspoek, 2017). Nei paragrafi seguenti verrà argomentata quest'affermazione, rintracciando le alterazioni, nel breve e nel lungo termine, prodotte dalle ELA sui sistemi biologici sopra discussi e discutendo come queste alterazioni influenzino l'attività psichica.

Cenno agli sviluppi del sistema nervoso e immunitario nei primi anni di vita

All'interno del sistema immunitario è possibile distinguere un'immunità innata e un'immunità adattiva. La prima, quella filogeneticamente più antica, costituisce la prima linea di difesa contro le infezioni ed è rappresentata dalle barriere epiteliali (cute, tratti respiratorio, gastrointestinale ecc.) e da una serie di cellule specializzate (fagociti, che comprendono neutrofili e macrofagi, linfociti natural killer, proteine del sistema del complemento) che attaccano immediatamente i microbi che hanno superato tali barriere. I bersagli di queste cellule sono strutture che il nostro organismo ha imparato a riconoscere come necessariamente non-self nel corso dell'evoluzione (ad esempio l'RNA a doppia elica, tipico di molti virus) (Abul K. Abbas, 2015). Una delle risposte principali del sistema immunitario innato è l'infiammazione, mediata da citochine, che consiste sostanzialmente nell'accumulo e nell'attivazione di leucociti e proteine nel sito d'infezione per uccidere i microbi (come vedremo, uno stato infiammatorio può tuttavia essere indotto anche dallo stress). L'immunità adattiva, evolutivamente più recente rispetto a quella innata, è composta da un'immunità umorale, mediata dai linfociti B, e da un'immunità cellulare, rappresentata dai linfociti T. Mentre i meccanismi dell'immunità innata riconoscono strutture condivise da diverse classi di microbi, le cellule dell'immunità adattiva esprimono recettori che riconoscono in modo specifico un numero molto più variegato di sostanze prodotte dai microbi, chiamate antigeni. (Abul K. Abbas, 2015). In particolare, i linfociti B riconoscono antigeni microbici extracellulari, i linfociti T riconoscono antigeni prodotti da microbi intracellulari; gli antigeni vengono di norma esposti sulla superficie di apposite cellule, come le cellule dendritiche e i macrofagi. Il riconoscimento dell'antigene provoca una serie di meccanismi, come ad esempio il rilascio di citochine, che richiamano cellule effettrici in grado di distruggere il microrganismo intracellulare o extracellulare (tra le cellule effettrici rientrano alcune cellule dell'immunità innata come i fagociti). L'immunità adattiva ha inoltre l'importante caratteristica di fornire risposte più ampie ed efficaci in seguito a ripetute esposizioni allo stesso antigene, cioè sviluppa una memoria immunitaria, mentre l'immunità innata in genere risponde in modo simile a successivi incontri con un determinato microrganismo. Nei primi anni di vita questi meccanismi non hanno ancora raggiunto l'efficacia tipica che si ha nell'adulto: i macrofagi mostrano in questa fase una ridotta capacità di produrre citochine pro-

infiammatorie in risposta a un'infezione, i neutrofili e i linfociti natural killer producono ancora bassi livelli di sostanze citotossiche; inoltre le cellule che presentano l'antigene sono meno numerose, per cui i linfociti sono immaturi, e sono meno numerosi anche i linfociti della memoria, che garantiscono risposte sempre più efficaci ad ogni nuovo incontro con lo stesso antigene (Andrea Danese S. J., 2017). Questa relativa immunodeficienza potrebbe servire a impedire potenziali effetti autoimmuni nel passaggio da un ambiente sterile come l'utero ad uno ricco di agenti infettivi come quello postnatale. Come il sistema immunitario, anche quello nervoso non è ancora maturo alla nascita: neurogenesi, migrazione cellulare e crescita degli assoni si sono già completati prima della nascita, ma la sinaptogenesi e la successiva "potatura" delle sinapsi in eccesso continuano nei primi anni di vita, e la mielinizzazione prosegue fino all'età adulta. A questa maturazione contribuisce tuttavia il sistema immunitario: alcuni tipi di chemochine, che rientrano nella famiglia delle citochine, regolano l'allungamento, la ramificazione e l'esplorazione degli assoni; le cellule microgliali e gli astrociti hanno un ruolo nel bilanciamento tra eccitazione e inibizione all'interno dei circuiti sinaptici, ad esempio promuovendo attraverso la secrezione di TNF- α l'espressione di recettori del glutammato. Durante la fase di "potatura" delle sinapsi in eccesso, i contatti che sono stati eliminati esprimono proteine del complemento in modo da essere riconosciuti e fagocitati dalle cellule microgliali. Inoltre la microglia permette lo sviluppo e il corretto funzionamento degli oligodendrociti, le cellule gliali responsabili della mielinizzazione all'interno del sistema nervoso centrale (Andrea Danese S. J., 2017). Iscrivendosi in un momento in cui i principali sistemi biologici non si sono ancora pienamente sviluppati, lo stress sottoforma di "early life adversity" è in grado di lasciare un'impronta duratura sull'individuo.

Lo stress durante l'infanzia altera il funzionamento degli assi neuroendocrini: l'esempio dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene

Il sistema dello stress

Per omeostasi si intende quella situazione ottimale in cui tutti i parametri fondamentali per la sopravvivenza (temperatura corporea, acqua, peso ecc.) sono mantenuti entro un certo intervallo di riferimento. Questo equilibrio viene mantenuto nonostante i parametri siano continuamente sottoposti a variazioni dovute a stimoli esterni o interni, per cui si parla di allostasi. **Lo stato allostatico iniziale ("fase d'allarme" secondo Hans Selye) induce una condizione fisiologica di stress che è funzionale per fronteggiare la situazione e poter successivamente ripristinare l'equilibrio (si pensi alla risposta "fight or flight" di fronte a eventi pericolosi per la sopravvivenza).** Coloro che mediano questa reazione fisiologica volta a ripristinare l'equilibrio sono proprio il sistema nervoso, endocrino e immunitario, che potremmo definire "sistemi allostatici".

L'esposizione ripetuta agli stimoli stressanti prolunga la risposta di questi sistemi provocando il cosiddetto "carico allostatico" ("fase di resistenza" secondo Hans Selye), che può sfociare in "sovraccarico allostatico" ("fase d'esaurimento" sempre secondo la terminologia di Selye) con conseguenze dannose per l'organismo (Andrea Danese B. S., 2012).

Il sistema dello stress, a livello cortico-limbico, è rappresentato da una serie di strutture reciprocamente interconnesse: corteccia cingolata anteriore, corteccia orbitofrontale, amigdala e ippocampo. In risposta al fattore stressante l'amigdala, attraverso la stria terminalis, stimola il nucleo paraventricolare dell'ipotalamo a secernere l'ormone di rilascio della corticotropina (CRH), che stimola a sua volta l'ipofisi anteriore a rilasciare l'ormone adrenocorticotropo (ACTH); quest'ultimo innesca la produzione di glucocorticoidi, in particolare cortisolo, da parte della corticale del surrene (Megan Gunnar, 2007). Il cortisolo aumenta i livelli di glucosio ematico (azione iperglicemizzante) accelera il catabolismo proteico e lipidico per far fronte alla situazione stressante. L'asse ipotalamo-ipofisi-surrene, come tutti gli assi neuroendocrini, è un sistema a feedback negativo in grado di autoregolarsi: i livelli circolanti di cortisolo vengono letti dall'ipotalamo e dall'ipofisi (anche dall'ippocampo) tramite i recettori specifici, che consentono così l'inibizione dell'ulteriore produzione di ormone se questo è in elevate dosi. Assieme al "braccio chimico", l'amigdala è in grado di attivare un "braccio nervoso" in risposta allo stress: ancora una volta tramite la mediazione dell'ipotalamo viene trasmessa informazione al tronco dell'encefalo e precisamente ai nuclei del locus coeruleus, che producono noradrenalina (Bottaccioli, 2005). Questi neuroni proiettano sia alla corteccia, per indurre lo stato di allerta, sia a numerosi organi (cuore, fegato, polmoni ecc.) per attivare la risposta viscerale allo stress. Tra i vari bersagli viene stimolata la midollare del surrene a produrre una miscela di sostanze eccitanti: adrenalina, noradrenalina e dopamina (questa porzione surrenale è in grado di produrre neurotrasmettitori poiché contiene una popolazione di cellule, le cosiddette cellule cromaffini, che hanno la stessa origine embriologica del tessuto nervoso) (Bottaccioli, 2005). I neurotrasmettitori rilasciati dalla midollare potenziano gli effetti indotti dalla stimolazione noradrenergica simpatica sugli altri organi.

Meccanismi mediati dallo stress responsabili dell'alterazione dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene

Molti sono gli studi che hanno esplorato gli effetti di eventi stressanti nell'infanzia sul funzionamento dell'asse HPA. I bambini maltrattati tendono ad avere livelli basali di cortisolo più alti rispetto ai bambini non maltrattati (Andrea Danese B. S., 2012); bambini di età scolare con disturbo post-traumatico da stress dovuto a violenze fisiche o abuso sessuale in età prescolare mostrano livelli urinari di cortisolo e noradrenalina più elevati nell'arco delle 24 ore rispetto ai bambini senza una storia di abuso; bambini cresciuti in orfanotrofi hanno sviluppato forme di

nanismo in età adulta, e ciò potrebbe essere dovuto al fatto che gli alti livelli di CRH e cortisolo in circolo interferiscono con l'ormone della crescita e i suoi prodotti (Megan R. Gunnar, 2001). Nel 2001 Gunnar e collaboratori hanno pubblicato su *Developmental and Psychopathology* un articolo (Megan R. Gunnar, 2001) in cui si esaminano gli effetti di esperienze in orfanotrofio su bambini romeni adottati dopo la caduta del regime di Ceausescu nel 1989. Il programma del dittatore romeno per incrementare la natalità portò all'abbandono di circa 65000 bambini, che vennero affidati ad orfanotrofi in condizioni pessime (malnutrizione, scarse cure mediche, alto rischio di infezioni, scarso contatto fisico, rischio di essere sessualmente abusati o picchiati). Il campione dello studio è composto da 18 bambini rumeni adottati dopo aver trascorso almeno 8 mesi in orfanotrofio (gruppo RO: "romanian orphanages"), 15 bambini rumeni adottati massimo a 4 mesi (gruppo EA: "early adopted") e 27 bambini nati in Canada e cresciuti con le loro famiglie (gruppo CB: "canadian born"). I bambini del primo gruppo avevano trascorso in media 17 mesi in orfanotrofio, i bambini del secondo gruppo 2 (6 dei 15 bambini vennero adottati a una o due settimane dalla nascita). Dal momento che alcune esperienze prenatali (stress della madre, esposizione ad alcol ecc.) potrebbero anche loro aver prodotto alterazioni dell'asse HPA oltre all'esperienza in orfanotrofio, il gruppo EA serve come importante fattore di controllo dal momento che condivide lo stesso background del gruppo RO: se si riscontrano differenze tra i due è verosimile che non siano dovute a condizioni prenatali. Su ogni soggetto dei tre gruppi sono stati prelevati i livelli salivari di cortisolo al risveglio, nel primo pomeriggio e in serata, per una durata complessiva di tre giorni. Per i bambini dei primi due gruppi, il prelievo è stato effettuato all'incirca 6 anni e mezzo dopo l'adozione, quindi ad età cronologiche diverse fra i due. I risultati dello studio mostrano che in tutti e tre i gruppi i livelli di cortisolo diminuiscono nell'arco della giornata, con valori tuttavia mediamente più alti nel gruppo RO (tabella 1); da analisi correlazionali emerge inoltre che i livelli serali di cortisolo sono quelli più stabili nell'arco dei tre giorni in cui viene effettuata la misurazione. L'analisi della varianza indica inoltre effetti significativi sia del gruppo che del momento della giornata sui livelli di cortisolo.

Groups	N	Wakeup	Noon	Evening
Romanian orphanage	18	.80 ^a (.18)	.35 (.16)	.16 (.31)
Early adopted	15	.68 (.18)	.26 (.17)	.10 (.26)
Canadian born	27	.68 (.18)	.28 (.14)	.10 (.33)

^aValues have been reconverted to linear units; means based on log10 transformed values.

Tabella 1: Media (e deviazione standard) dei livelli di cortisolo (µg/dl) tra i gruppi.

Per valutare meglio l'effetto del gruppo sui livelli di cortisolo, i valori relativi a ogni bambino sono stati mediati e standardizzati per ottenere il livello medio giornaliero dell'ormone (DAC: "daily average cortisol"). In figura 1 è mostrato il confronto tra le tre distribuzioni standardizzate.

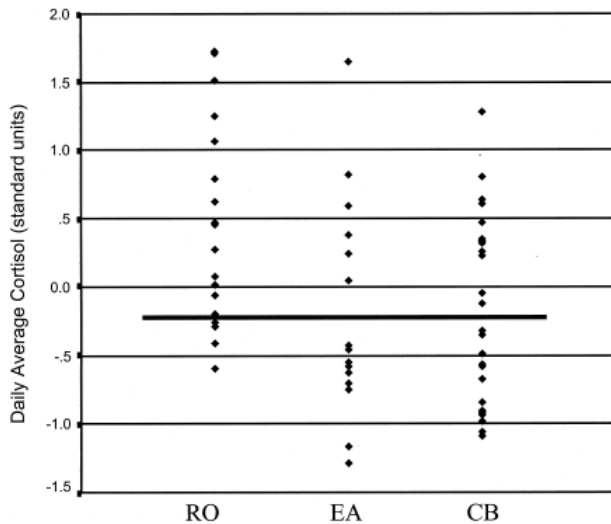


Figura 1

Dalla figura emerge che l'intera distribuzione del primo gruppo è spostata verso valori di cortisolo decisamente più alti rispetto alle altre due. Solo 4 bambini del primo gruppo si situano sotto la media combinata delle distribuzioni EA e CB, rappresentata dalla linea orizzontale. Le differenze nei livelli di cortisolo non sembrano dipendere dalle differenze di età, altezza e quoziente intellettivo (sebbene il gruppo dei RO presenti un QI mediamente più basso degli altri due gruppi).

Successivamente è stata analizzata più in dettaglio l'associazione tra la durata del periodo in orfanotrofio e i livelli medi di cortisolo, rappresentata dal grafico di dispersione in figura 2.

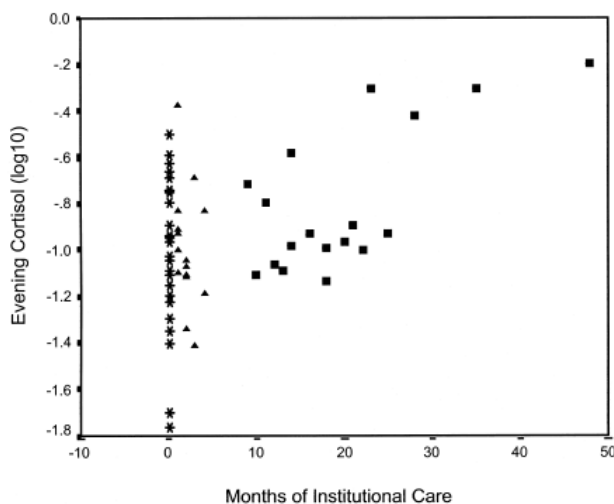


Figura 2: (*) CB, (Δ) EA, (□) RO.

Maggiore è la durata del periodo trascorso in orfanotrofia e maggiori sono i livelli di cortisolo (espressi in figura con valori logaritmici); questa correlazione è stata trovata solo per i livelli serali di cortisolo, che come già accennato sono quelli che si sono mantenuti più stabili nel corso delle rilevazioni. Secondo gli autori l'incapacità di portare a valori molto bassi i livelli dell'ormone nelle ore serali riflette un'importante disregolazione a livello dell'asse HPA e in generale del sistema dello stress.

Una corposa mole di studi su roditori ha indagato i meccanismi molecolari sottostanti all'alterazione dell'asse HPA indotta dallo stress. Uno di questi (Ian C. G. Weaver, 2004) ha mostrato che il livello di cure materne prestato al piccolo nell'arco della prima settimana dalla nascita è in grado di programmare a livello epigenetico la sua futura risposta allo stress. Già studi precedenti hanno evidenziato come cuccioli nati da madri molto amorevoli sono meno ansiosi da adulti e mostrano minori risposte ormonali allo stress, in particolare meno livelli di corticosterone, rispetto a quelli nati da madri poco amorevoli. Il mediatore di questi effetti sembrerebbe essere la regione 1₇ del primo esone del gene per il recettore dei glucocorticoidi dell'ippocampo, contenente un promotore per il fattore di trascrizione NGFI-A, noto anche come zif-268 (figura 3a, con il promotore nel riquadro in grigio). Le alte cure materne sono accompagnate da un aumento dell'espressione di questo fattore e dal conseguente aumento dell'espressione del gene per il recettore a livello dell'ippocampo. Ciò porta a un feedback negativo più efficace e a un maggior controllo nella produzione di glucocorticoidi. Lo studio sopra menzionato mostra che i figli di madri che hanno prestato bassi livelli di cure hanno infatti maggiori livelli di metilazione a livello dei 15 dinucleotidi CpG nella regione 1₇ (figura 3b) e hanno sempre metilato il sedicesimo dinucleotide (dinucleotide 5') a livello del promotore della medesima regione, mentre nei figli di madri amorevoli questo dinucleotide è raramente metilato (figura 3c); invece il diciassettesimo dinucleotide (dinucleotide 3') è sempre metilato in entrambi i gruppi (figura 3c). Come è noto la metilazione del DNA è un meccanismo epigenetico che consiste nell'aggiunta di un gruppo metile sulle citosine affiancate da guanine (la "p" nel termine CpG indica appunto il gruppo fosfato che lega il nucleotide contenente citosina e quello contenente guanina). Essa, se si verifica nella regione del promotore come in questo caso, rende il DNA meno accessibile ai fattori di trascrizione; dunque nei figli di madri poco amorevoli vi sarà una minor produzione di recettore per i glucocorticoidi nell'ippocampo. Gli autori dello studio ritengono che questo pattern di metilazione dipende esclusivamente dal comportamento della madre, e non viene trasmesso per via germinale, perché se i figli di madri che curano poco vengono affidati entro 12 ore dalla nascita a madri che curano molto esibiscono livelli di metilazione perfettamente paragonabili ai piccoli nati e cresciuti da queste ultime e viceversa (figura 3d). E' opportuno notare che il dinucleotide 3' rimane comunque

metilato. Gli autori dimostrano inoltre come appena prima della nascita (E20: 20 giorni di gestazione) l'intera regione 1₇ sia demetilata, dopodiché la zona del promotore venga metilata al primo giorno postnatale (P1). A questo punto si apre una forbice: coloro che vengono allevati da madri premurose riducono progressivamente i livelli di metilazione sul dinucleotide 5', mentre gli altri li mantengono elevati, mentre nel dinucleotide 3' la metilazione rimane ovunque invariata (figura 3e).

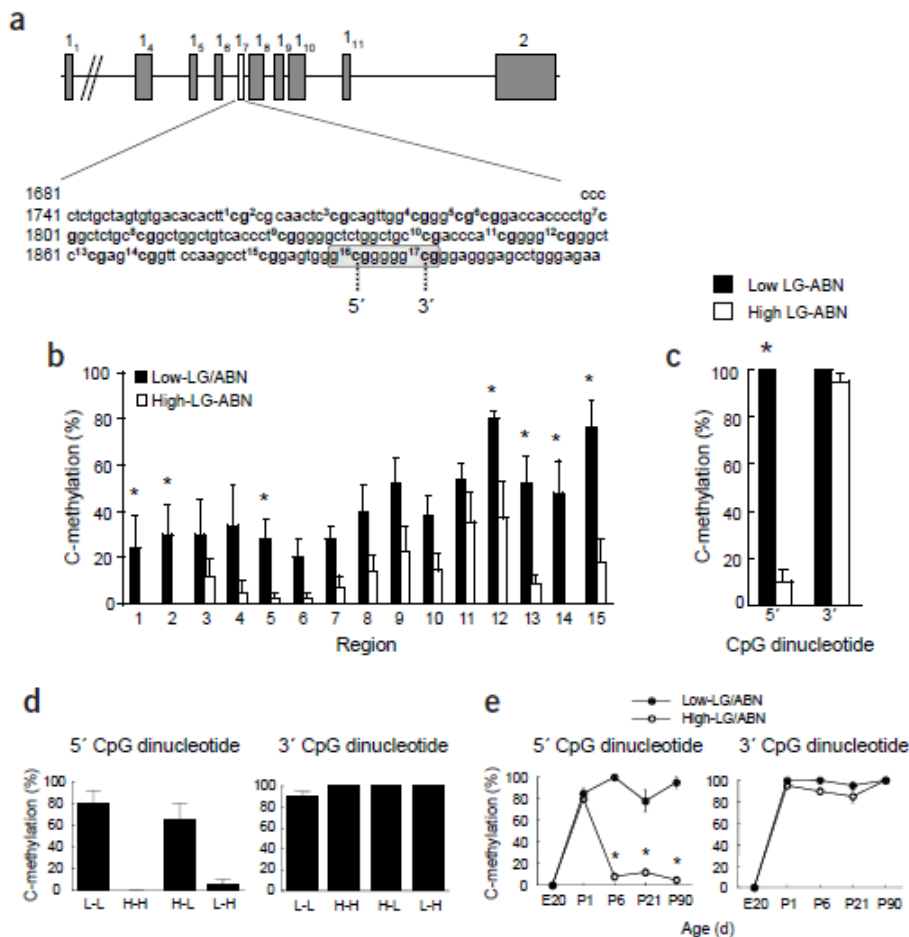


Figura 3: Il termine LG-ABN (“Licking Grooming and Arched Back Nursing”) indica i vari comportamenti materni di cura, che possono essere presenti scarsamente (Low LG-ABN) o in modo elevato (High LG-ABN).

Per riassumere, le differenze nell'espressione del gene per il recettore dei glucocorticoidi tra la prole che ha ricevuto alti livelli di cure e quella che ha ricevuto bassi livelli di cure sarebbero dovute al diverso grado di metilazione del dinucleotide CpG 5' all'interno del promotore per il fattore di trascrizione NGFI-A. Le elevate cure materne non intervengono tuttavia solo sulla metilazione del DNA ma anche sull'acetilazione degli istoni, un altro meccanismo epigenetico che consiste nell'aggiunta di gruppi acetile ai residui di lisina degli istoni, proteine basiche attorno a cui si avvolge il DNA in modo da divenire più compatto. L'aggiunta di un gruppo acetile indebolisce il legame elettrostatico tra gli istoni carichi positivamente e il DNA carico negativamente, rendendo il

materiale genetico meno impacchettato e quindi più accessibile ai fattori di trascrizione. Attraverso l'aumento dell'acetilazione e la diminuzione della metilazione le elevate cure materne favoriscono il legame tra l'NGFI-A e il suo promotore e quindi la trascrizione genica. Gli autori dimostrano infine che tali meccanismi epigenetici sono reversibili: l'iniezione dell'inibitore dell'enzima istone deacetilasi Tricostatina A (TSA) nel ratto adulto che ha ricevuto poche cure porta a un netto aumento dei livelli di legame tra NGFI-A e promotore, poiché la sostanza diminuisce i livelli di metilazione sul dinucleotide 5' (anche sul dinucleotide 3', dimostrando di avere effetti epigenetici più ampi delle cure materne); di conseguenza in risposta al trattamento aumenta l'espressione del recettore ipocampale dei glucocorticoidi. La TSA inibisce la deacetilazione degli istoni e, aumentando l'accessibilità del materiale genetico ai fattori trascrizionali, innesca la demetilazione del DNA. Gli animali trattati con questa sostanza mostrano inoltre una riduzione dei livelli plasmatici di corticosterone rispetto a quelli non trattati, mostrando una risposta allo stress paragonabile a quella degli animali che hanno ricevuto elevati livelli di cure.

Lo stress durante l'infanzia altera la risposta immunitaria in senso infiammatorio

In uno studio recente (Andrea Danese C. M., 2007) è stato dimostrato che bambini che subiscono maltrattamenti hanno livelli di infiammazione più elevati da adulti rispetto a coloro che non li hanno subiti. I partecipanti alla suddetta ricerca fanno parte del Dunedin Multidisciplinary Health and Development Study, uno studio longitudinale condotto su 1037 individui nati tra il 1972 e il 1973 a Dunedin, in Nuova Zelanda. I soggetti hanno svolto una serie di controlli a varie età (3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 18, 21, 26, 32 anni) durante i quali sono stati intervistati ed è stata esaminata la loro salute fisica e mentale. Tra i vari parametri, è stata anche rilevata la presenza di maltrattamenti durante i primi dieci anni di vita tramite osservazioni, colloquio con il bambino e i genitori, racconti retrospettivi dei partecipanti a 26 anni. Da queste analisi è emerso che il 64% dei bambini non ha vissuto esperienze di maltrattamento, il 27% ne ha riportata una (classificato come "probable maltreatment"), il 9% due o più (classificato come "definite maltreatment"). Il presente studio si basa su coloro (972 partecipanti) che hanno effettuato il controllo a 32 anni, e in particolare sugli 892 soggetti da cui sono stati ricavati campioni di sangue a quell'età. 26 donne incinte sono state escluse dalle analisi, per un numero finale di 866 soggetti. Dai campioni raccolti sono stati misurati i livelli della proteina C-reattiva (CRP), un affidabile indicatore dell'infiammazione, oltre a quelli di fibrinogeno e globuli bianchi. La prima ipotesi dello studio da verificare è che i bambini maltrattati mostrano livelli più elevati della proteina, e la seconda che queste esperienze di maltrattamento sono un fattore di rischio indipendente da altri fattori per l'infiammazione da adulto.

A tal proposito gli autori hanno verificato se ai bambini maltrattati siano associati in realtà altri fattori (nello studio è stata considerata la nascita sottopeso, il basso status socioeconomico, il QI basso) responsabili dell'inflammazione; questa è la cosiddetta “co-occurring risk hypothesis”. In accordo invece alla “adult stress hypothesis” i bambini maltrattati sarebbero esposti nel crescere ad altre esperienze negative che potrebbero spiegare i livelli infiammatori (qui è stata considerata la depressione, il basso status socioeconomico, l'alto stress percepito). In terzo luogo, secondo la “health-behaviour hypothesis”, i bambini maltrattati potrebbero successivamente adottare comportamenti negativi (qui si è considerato il fumo, il livello di attività fisica, il tipo di dieta) o essere in cattiva salute da adulti (nello studio ci si è basati sugli indicatori della sindrome metabolica, situazione clinica che aumenta il rischio per malattie cardiovascolari). Nella tabella 2 è mostrata l'associazione tra il maltrattamento e i vari fattori di rischio in base alle ipotesi sopra riportate.

Risk factor	Level	Maltreatment, % (n)*			P value†
		No 64 (551)	Probable 27 (232)	Definite 9 (83)	
Adult inflammation:					
hsCRP (>3 mg/liter), % (n)		18 (99)	21.3 (49)	32.5 (27)	0.011
hsCRP, (log) mean (SE)		0.16 (0.047)	0.24 (0.074)	0.51 (0.148)	0.028
Fibrinogen, mean (SE)		2.55 (0.025)	2.61 (0.036)	2.72 (0.068)	0.035
WBC, mean (SE)		7.39 (0.071)	7.93 (0.124)	8.08 (0.221)	<0.0001
Co-occurring early life risks:					
Low birth weight, % (n)		5.1 (28)	3.0 (7)	7.2 (6)	0.222
Child SES, % (n)	Low	14.7 (81)	25.3 (58)	37.8 (31)	
	Medium	67.8 (373)	60.3 (138)	48.8 (40)	
	High	17.5 (96)	14.4 (33)	13.4 (11)	<0.0001
Low child IQ, % (n)		8.8 (47)	20.0 (46)	22.0 (18)	<0.0001
Adult stress indicators:					
SES, % (n)	Low	26.7 (147)	37.1 (86)	41.0 (34)	
	Medium	35.7 (196)	32.3 (75)	32.5 (27)	
	High	37.6 (207)	30.6 (71)	26.5 (22)	0.01
Major depression, % (n)		12.7 (70)	16.8 (39)	32.5 (27)	<0.0001
High perceived stress, % (n)		23.7 (129)	29.9 (69)	42.2 (35)	0.001
Adult health and health behavior:					
Cardiovascular risk cluster, % (n)		14.2 (78)	22.1 (51)	18.1 (15)	0.024
Smoking, % (n)	Nonsmoker	63.6 (350)	53.0 (123)	36.1 (30)	
	Up to 10 per day	17.3 (95)	19.4 (45)	18.1 (15)	
	11 to 20 per day	15.6 (86)	22.4 (52)	30.1 (25)	
	>20 per day	3.5 (19)	5.2 (12)	15.7 (13)	<0.0001
Physical activity, % (n)	Light	26.0 (142)	23.4 (54)	21.7 (18)	
	Moderate	26.0 (142)	24.2 (56)	21.7 (18)	
	Hard	25.1 (137)	26.0 (60)	25.3 (21)	
	Very hard	23.0 (126)	26.4 (61)	31.3 (26)	0.712
Diet (fruit, vegetable intake), % (n)	Very low	25.8 (142)	24.2 (56)	30.1 (25)	
	Low	33.8 (186)	40.3 (93)	32.5 (27)	
	High	20.6 (113)	22.1 (51)	16.9 (14)	
	Very high	19.8 (109)	13.4 (31)	20.5 (17)	0.252
Others:					
Male sex, % (n)		53.5 (295)	53.9 (125)	44.6 (37)	0.295
Use of antiinflammatory medication, % (n)		32.8 (179)	27.7 (64)	19.8 (16)	0.035

Tabella 2

L'elevata infiammazione in età adulta è più frequente nel gruppo che ha subito almeno due maltrattamenti nell'infanzia. Inoltre, in accordo con la “co-occurring risk hypothesis”, è più probabile che i bambini maltrattati abbiano sperimentato “co-occurring early life risks”. Lo stesso vale per la “adult stress hypothesis” e la “health-behaviour hypothesis”, i cui fattori di rischio sono più frequentemente presenti nei bambini vittime di maltrattamenti. Nella tabella 3 è invece riportata

l'analisi di regressione tra ciascun fattore e il livello di infiammazione. Il parametro calcolato per valutare l'associazione è il rischio relativo ($RR = \frac{\text{rischio negli esposti}}{\text{rischio nei non esposti}}$), laddove il rischio è quello di avere alti livelli di infiammazione (CRP maggiore di 3 mg/dl); sono inoltre riportati gli intervalli di confidenza al 95% per il parametro. Se il rischio relativo è maggiore di 1 significa che il fattore è associato ad alti livelli di infiammazione (fattore di rischio), se è minore di 1 significa che è associato a bassi livelli di infiammazione (fattore di difesa); se il parametro è uguale a zero vuol dire che il fattore non influisce sull'infiammazione.

Risk factor	Level	Baseline	Model 1	Model 2	Model 3	Model 4
Childhood maltreatment:	No	1	1	1	1	1
	Probable	1.18 (0.87–1.60)	1.11 (0.81–1.52)	1.20 (0.89–1.63)	1.16 (0.86–1.56)	1.07 (0.78–1.46)
	Definite	1.80 (1.26–2.58)	1.58 (1.08–2.31)	1.64 (1.12–2.39)	1.76 (1.23–2.51)	1.61 (1.12–2.32)
Co-occurring early life risks:						
Low birth weight		1.61 (1.00–2.57)	1.34 (0.85–2.12)	—	—	1.28 (0.80–2.04)
Child SES	Low	1.96 (1.19–3.25)	1.77 (1.05–2.97)	—	—	1.47 (0.88–2.45)
	Medium	1.59 (1.00–2.52)	1.60 (1.00–2.55)	—	—	1.51 (0.95–2.40)
	High	1	1	—	—	1
Low child IQ		1.44 (1.03–2.01)	1.27 (0.91–1.78)	—	—	1.07 (0.73–1.57)
Adult stress indicators:						
SES	Low	1.38 (0.99–1.92)	—	1.23 (0.87–1.74)	—	1.16 (0.80–1.70)
	Medium	1.19 (0.85–1.67)	—	1.14 (0.81–1.60)	—	1.08 (0.78–1.51)
	High	1	—	1	—	1
Major depression		1.45 (1.06–1.99)	—	1.17 (0.83–1.64)	—	1.17 (0.83–1.64)
High perceived stress		1.45 (1.10–1.91)	—	1.22 (0.90–1.66)	—	1.17 (0.86–1.58)
Adult health and health behavior:						
CV risk cluster		2.39 (1.84–3.10)	—	—	2.50 (1.91–3.27)	2.34 (1.77–3.08)
Smoking	Nonsmoker	1	—	—	1	1
	Up to 10 per day	0.88 (0.61–1.28)	—	—	0.93 (0.64–1.35)	0.92 (0.64–1.34)
	11 to 20 per day	0.85 (0.59–1.23)	—	—	0.76 (0.52–1.10)	0.74 (0.50–1.09)
	>20 per day	1.18 (0.69–2.03)	—	—	1.14 (0.64–2.04)	1.06 (0.58–1.93)
Physical activity	Light	1.57 (1.05–2.34)	—	—	1.25 (0.83–1.88)	1.32 (0.87–1.99)
	Moderate	1.47 (0.98–2.21)	—	—	1.16 (0.78–1.73)	1.27 (0.84–1.92)
	Hard	1.30 (0.86–1.97)	—	—	1.10 (0.73–1.66)	1.13 (0.75–1.72)
	Very hard	1	—	—	1	1
Diet (fruit, vegetable) Intake	Very low	1.01 (0.68–1.48)	—	—	1.09 (0.74–1.61)	1.03 (0.68–1.55)
	Low	0.78 (0.53–1.16)	—	—	0.82 (0.56–1.19)	0.81 (0.55–1.19)
	High	1.01 (0.67–1.52)	—	—	0.92 (0.63–1.36)	0.95 (0.64–1.42)
	Very high	1	—	—	1	1
Others:						
Male sex		0.50 (0.38–0.66)	0.54 (0.41–0.72)	0.54 (0.41–0.72)	0.50 (0.38–0.68)	0.56 (0.41–0.76)
Use of antiinflammatory medication		1.33 (1.01–1.75)	1.34 (1.02–1.76)	1.37 (1.03–1.81)	1.35 (1.03–1.77)	1.37 (1.03–1.82)

Tabella 3

I bambini che hanno ricevuto due o più maltrattamenti tendono ad avere livelli di più elevati di infiammazione da adulti (RR=1,80, “baseline model”). Quest’associazione, seppure di minor forza, si osserva anche per coloro che hanno riportato una sola esperienza di maltrattamento (RR=1,18, “baseline model”). Sebbene il basso QI, il basso status socioeconomico e il basso peso alla nascita siano effettivamente associati ad alti livelli infiammatori (RR > 1, “baseline model”), dopo aver controllato per questi fattori l’associazione tra il maltrattamento e la variabile dipendente rimane significativa (RR=1,11 e RR=1,58, “model 1”). Analogamente gli indicatori dello stress da adulti sono associati in maniera significativa con alti livelli di infiammazione (anche qui RR > 1, “baseline model”), ma anche in questo caso il loro controllo (“model 2”) non inficia la significatività della relazione tra maltrattamento e infiammazione (RR=1,20, RR=1,64). Anche i fattori considerati dalla “health-behaviour hypothesis” influiscono sull’infiammazione (RR > 1,

baseline model”), fatta eccezione per il tipo di dieta, ma come i precedenti anche questi non alterano la significatività della relazione tra maltrattamento e infiammazione una volta che vengono controllati (RR=1,16 e RR=1,76, “model 3”). Infine, anche controllando contemporaneamente tutti i fattori di rischio l’associazione rimane significativa (RR=1,07 e RR=1,61, “model 4”). Lo studio suggerisce quindi l’esistenza di una relazione di causa-effetto tra gli abusi subiti dal bambino e gli alti livelli di infiammazione in età adulta poiché i primi (la causa) precedono i secondi (l’effetto) e sembra esservi una relazione dose-risposta tra l’entità del maltrattamento e l’infiammazione. Infine la causa in questione è indipendente da altri possibili fattori.

Meccanismi nervosi e ormonali responsabili

Lo stress subito nella prima infanzia non conduce quindi soltanto a una disregolazione a lungo termine dell’asse HPA, ma produce anche marcati effetti sul sistema immunitario in grado di settarlo su modalità di funzionamento anomale in un momento in cui, come abbiamo visto, i meccanismi che lo regolano non si sono ancora pienamente sviluppati. Uno dei responsabili dell’alterazione della risposta immunitaria è proprio la disregolazione dell’asse HPA sopra descritta, che porta all’innalzamento dei livelli di cortisolo in circolo. Quest’ormone, in condizioni allostatiche di breve durata, ha un efficace effetto immunosoppressivo e in particolare antiinfiammatorio che si realizza ad esempio tramite la riduzione dell’espressione dei geni per le citochine IL-6 e IL-1. Questa funzione ha un significato evolutivamente importante perché il possibile pericolo rappresentato dalla situazione di stress richiede una rapida mobilitazione di energie, e le risposte immunitarie durano più a lungo di quanto richiederebbe l’immediatezza di una situazione emergenziale (S. Marc Breedlove, 2009). Tuttavia questo ruolo immunosoppressivo è funzionale se la condizione di stress è breve, ovvero se lo stato allostatico non si trasforma in carico se non addirittura sovraccarico allostatico. Il tal caso la secrezione prolungata di cortisolo sembra provocare una riduzione della sensibilità delle cellule immunitarie verso di esso, data dalla diminuzione dei recettori a cui è in grado di legarsi (down-regulation), e quindi allo spostamento del sistema immunitario verso un profilo decisamente infiammatorio, con il rischio di sviluppare numerose patologie (malattie autoimmuni, diabete ecc.). Inoltre lo stress può alterare la risposta immunitaria in senso infiammatorio riducendo l’effetto della branca colinergica efferente del vago o favorendo il rilascio di catecolamine da parte delle fibre simpatiche che innervano direttamente gli organi linfoidi e che stimolano la midollare del surrene a rilasciare ulteriori quantità di neurotrasmettitore. Da uno studio non troppo recente (Angelika Bierhaus, 2003) emergono prove a favore di quest’ultima relazione. 19 partecipanti alla ricerca hanno svolto il Trier Social Stress Test (TSST), che consiste nel pronunciare un discorso e svolgere un compito matematico in pubblico per quindici minuti. Dagli stessi soggetti sono stati prelevati dei campioni di sangue un minuto prima,

dieci e sessanta minuti dopo la prova per ottenere degli esemplari di cellule mononucleate (monociti e linfociti) su cui poter analizzare l'attività dell'NF-κB, fattore di trascrizione che sembra essere un buon candidato nel convertire lo stress nell'attivazione cellulare, dal momento che molti studi hanno mostrato un suo aumento in condizioni di stress. Sono stati inoltre rilevati i livelli di ACTH, cortisolo e catecolamine (adrenalina e noradrenalina) prima, durante e dopo la prestazione. Come atteso, tutti e tre i parametri mostrano un incremento durante lo stress indotto dal test (Figura 4a); da notare è anche un netto aumento dell'attività dell'NF-κB dieci minuti dopo il TSST, che poi ritorna a livelli basali dopo sessanta minuti (Figura 4b). Due soggetti in cui non si verifica l'aumento di ACTH, cortisolo e catecolamine indotto dallo stress non mostrano nemmeno l'incremento dell'attività dell'NF-κB. Per escludere che questo fattore possa essere attivato da agenti diversi allo stress, sono stati estratti campioni cellulari anche dagli spettatori del TSST; i risultati confermano quanto atteso, ovvero il fatto che l'attività dell'NF-κB si attesta a valori basali prima, durante e dopo la prova (Figura 4c). A ulteriore conferma dei risultati, rimane sottosoglia anche l'attività del fattore di trascrizione OCT-1, la cui attività non è generalmente indotta da stimoli stressanti (Figura 4d).

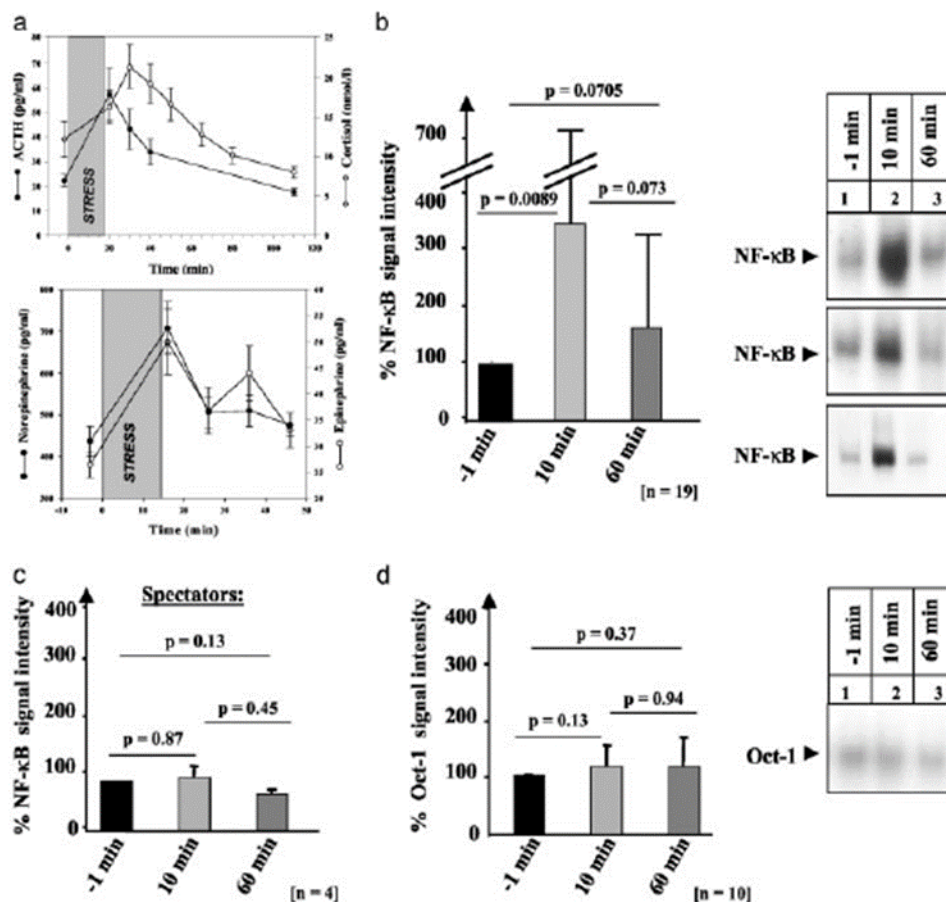


Figura 4

Per manipolare più direttamente la relazione correlativa osservata tra stress e attivazione del fattore di trascrizione, un topo transgenico con un gene reporter per la β -globina, controllato da NF- κ B, è stato immobilizzato per venti minuti. Come atteso lo stress causato dalla procedura risulta in un incremento della produzione di mRNA per il suddetto gene rispetto alla condizione di controllo. Questo incremento della trascrizione è ridotto se il topo immobilizzato è stato precedentemente trattato con un'antagonista dei recettori adrenergici α_1 (prazosina), e ciò suggerisce un possibile ruolo delle catecolamine nell'innescare l'attività di NF- κ B. In effetti la stimolazione di cellule monocitiche in coltura con adrenalina o noradrenalina induce una significativa attivazione del fattore trascrizionale; tuttavia per ottenere questo effetto, fanno notare gli autori, sono necessarie dosi di adrenalina circa 100 volte maggiori rispetto a quelle osservate nei soggetti che hanno svolto il TSST, mentre per la noradrenalina non è stato necessario incrementare la dose per ottenere un effetto. In accordo con quanto osservato nel topo, l'incubazione delle cellule con prazosina prima della stimolazione con noradrenalina riduce l'attività di NF- κ B, e questo effetto si ottiene anche con un antagonista del recettore adrenergico β_1 (metoprololo) e β_2 (butoxamina). Gli autori ipotizzano dunque la via intracellulare attraverso cui le catecolamine, e in particolare la noradrenalina, inducono l'aumento dell'attività del fattore di trascrizione NF- κ B (Figura 5).

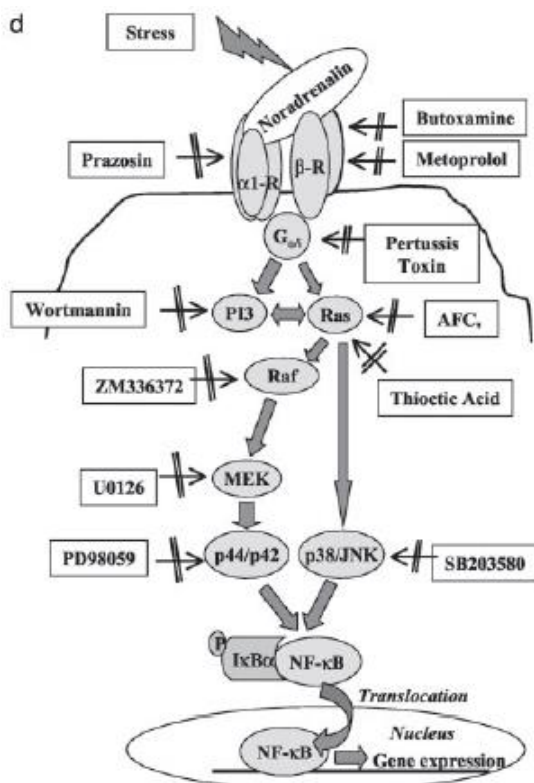


Figura 5: nei riquadri sono scritti gli inibitori selettivi di ciascun mediatore della via intracellulare. Osservando come la loro somministrazione causasse la diminuzione dell'attività dell'NF- κ B, gli autori hanno potuto identificare con maggior precisione gli agenti responsabili all'interno di questo pathway.

Lo stress induce il rilascio della noradrenalina, che si lega ai recettori adrenergici α_1 e β . Si tratta di recettori metabotropici accoppiati a proteine G, che attivano la proteina Ras direttamente o indirettamente attraverso la famiglia di enzimi PI3-kinasi. Ras interagisce con Raf, che fosforila MEK, chinasi che attiva a sua volta p44/p42-MAPK, altre due chinasi. Ras può tuttavia bypassare questi passaggi intermedi e indurre direttamente l'attivazione della chinasi p38-MAPK. MAPK infine degrada I κ B α , inibitore citoplasmatico dell'NF- κ B, cosicché questo si attiva e trasloca nel nucleo dove può realizzare la trascrizione.

Effetti dell'infiammazione sullo sviluppo del sistema nervoso e sulle funzioni cognitive

Come detto in precedenza, lo sviluppo del cervello non è terminato alla nascita ma si estende fino all'adolescenza, con un ruolo importante del sistema immunitario nel garantirlo. Per questo motivo un'attivazione immunitaria in senso infiammatorio in queste fasi precoci, come quella mediata dalle "Early life adversity", potrebbe produrre effetti permanenti sullo sviluppo nervoso e sulla cognizione. Studi sperimentali hanno indotto stati infiammatori tramite infezioni in piccoli di ratto e hanno rilevato successivi deficit di attenzione, memoria e apprendimento (Staci D. Bilbo, 2009).

Uno studio recente (Golam M. Khandaker, 2014) dimostra che gli elevati livelli di infiammazione nel bambino aumentano il rischio di sviluppare depressione e psicosi in età adulta. Gli autori si sono basati sui dati dell'Avon Longitudinal Study of Parents and Children (ALSPAC), una ricerca longitudinale condotta su 14062 nati tra il 1991 e il 1992 da donne residenti nella contea di Avon. A partire da 7 anni i figli hanno svolto annualmente interviste e test per misurare vari parametri fisici. Khandaker et al. si sono basati su 4585 soggetti che hanno fornito campioni di sangue per misurare i livelli della proteina C-reattiva e della citochina IL-6, entrambi indicatori dell'infiammazione. L'ipotesi che è stata verificata è che livelli elevati di questi due indicatori aumentino il rischio di sviluppare patologie psichiatriche come la depressione e la psicosi, entrambe misurate quando i soggetti avevano 18 anni. Per misurare la prima è stata utilizzata la versione computerizzata del Clinical Interview Schedule-Revised (CIS-R) e il Mood and Feelings Questionnaire (MFQ); per la seconda la Psychosis-Like Symptom Interview, intervista semistrutturata che indaga la presenza di esperienze psicotiche quali allucinazioni, deliri, interferenza di pensiero. Nel caso in cui queste si fossero verificate almeno una volta al mese nei 6 mesi precedenti, producendo uno stato di stress che si ripercuoteva sulla vita sociale e relazionale del soggetto, allora sono state classificate come disturbo psicotico.

La tabella 4 mostra come si ripartiscono i valori della CRP e l'IL-6 misurati a 9 anni fra i casi psichiatrici e il resto dei soggetti a 18 anni.

Characteristic	Depression at 18 y			Psychotic Experience at 18 y		
	Case	Noncase	P Value ^a	Case	Noncase	P Value ^a
Total No. of participants	422	2025		101	2427	
Serum IL-6, pg/mL						
Mean (SD)	1.35 (1.59)	1.16 (1.37)	.02	1.56 (1.99)	1.16 (1.35)	.05
Median (IQR)	0.87 (0.55-1.48)	0.74 (0.46-1.29)	.001	0.98 (0.53-1.72)	0.75 (0.46-1.30)	.01
Serum CRP, mg/L						
Mean (SD)	0.72 (2.79)	0.55 (1.42)	.22	1.12 (4.35)	0.56 (1.57)	.19
Median (IQR)	0.21 (0.12-0.50)	0.20 (0.11-0.46)	.09	0.26 (0.11-0.61)	0.20 (0.11-0.46)	.11

Tabella 4

Complessivamente si sono quindi riscontrati 422 casi di depressione su un totale di 2447 (valutati con il CIS-R, con cut-off pari a 7), 101 casi di esperienze psicotiche su un totale di 2522. 35 di quei 101 sono stati definiti casi di disordine psicotico. I livelli di IL-6 a 9 anni sono inoltre molto più elevati tra coloro che hanno successivamente sviluppato una condizione psichiatrica. Ciò emerge anche dalla figura 5, che riporta le proporzioni di soggetti depressi o con esperienze psicotiche suddivisi in base ai terzili della distribuzione dell'interleuchina-6.

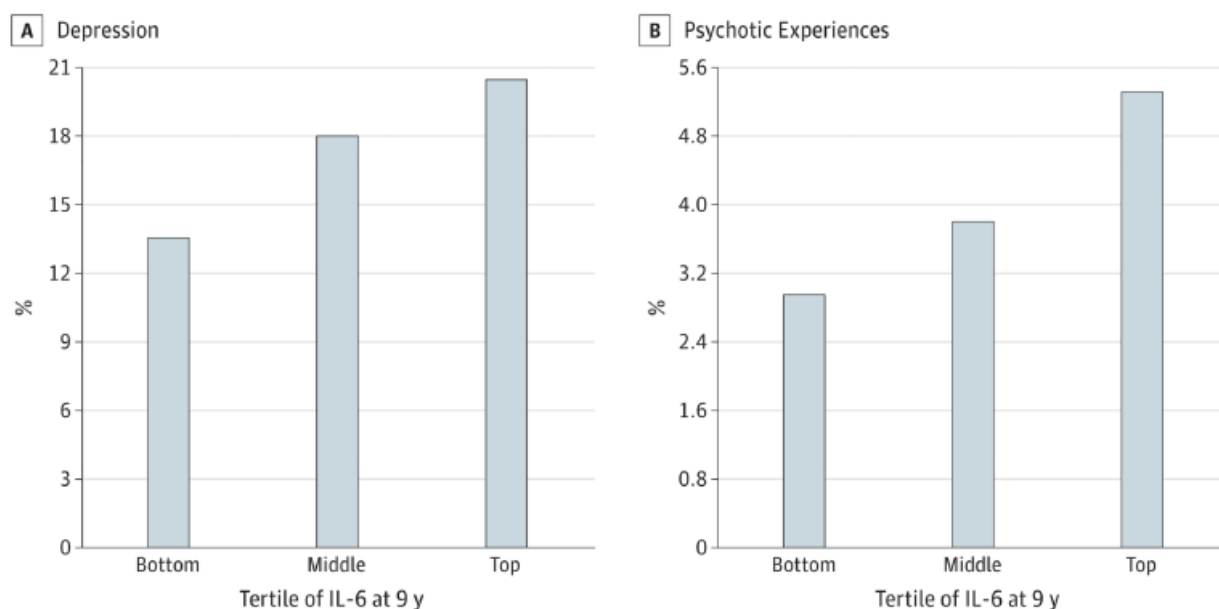


Figura 5: i cut-off per i terzili sono 0,57 (per il confine bottom/middle) e 1,08 (per il confine middle/top) pg/mL.

Per valutare più direttamente la relazione tra infiammazione e disturbo psichiatrico è stato

successivamente calcolato l'odds ratio ($OR = \frac{P(\text{disturbo}/\text{esposti})/1-P(\text{disturbo}/\text{esposti})}{P(\text{disturbo}/\text{non esposti})/1-P(\text{disturbo}/\text{non esposti})}$). Del

gruppo di riferimento, di non esposti, fanno parte i soggetti che si situano nel terzile con valori di IL-6 o CRP più bassi, mentre come gruppo di esposti sono stati considerati separatamente i soggetti che rientrano negli altri due terzili. Le tabelle 5 e 6 riportano rispettivamente le misure di associazione tra i livelli di infiammazione e la depressione, misurata con il CIS-R, e tra infiammazione e esperienze psicotiche/disturbo psicotico.

Inflammatory Marker	Group ^a	No.	Depressed, No. (%)	OR (95% CI)			
				Unadjusted	Model 1 ^b	Model 2 ^c	Model 3 ^d
IL-6	Bottom third	856	116 (13.6)	1 [Reference]	1 [Reference]	1 [Reference]	1 [Reference]
	Middle third	821	148 (18.0)	1.40 (1.07-1.83)	1.39 (1.06-1.82)	1.38 (1.03-1.86)	1.27 (0.92-1.75)
	Top third	770	158 (20.5)	1.64 (1.26-2.14)	1.61 (1.22-2.11)	1.77 (1.33-2.36)	1.55 (1.13-2.14)
	Linear trend	2447	422 (17.2)	1.27 (1.12-1.45)	1.26 (1.10-1.44)	1.33 (1.15-1.53)	1.24 (1.06-1.46)
CRP	Bottom third	920	142 (15.4)	1 [Reference]	1 [Reference]	1 [Reference]	1 [Reference]
	Middle third	791	140 (17.7)	1.17 (0.91-1.52)	1.15 (0.89-1.50)	1.17 (0.89-1.55)	1.02 (0.75-1.39)
	Top third	742	141 (19.0)	1.28 (0.99-1.66)	1.20 (0.91-1.59)	1.26 (0.95-1.66)	0.98 (0.70-1.37)
	Linear trend	2453	423 (17.2)	1.13 (1.00-1.28)	1.10 (0.95-1.26)	1.12 (0.98-1.29)	0.99 (0.83-1.17)

Inflammatory Marker	Group ^a	No.	Psychotic, No. (%)	OR (95% CI)			
				Unadjusted	Model 1 ^b	Model 2 ^c	Model 3 ^d
Psychotic experiences at age 18 y							
IL-6	Bottom third	887	27 (3.0)	1 [Reference]	1 [Reference]	1 [Reference]	1 [Reference]
	Middle third	842	32 (3.8)	1.25 (0.75-2.12)	1.23 (0.73-2.09)	1.21 (0.68-2.16)	1.12 (0.60-2.11)
	Top third	793	42 (5.3)	1.78 (1.09-2.92)	1.73 (1.04-2.88)	1.89 (1.12-3.22)	1.81 (1.01-3.28)
	Linear trend	2522	101 (4.0)	1.34 (1.04-1.71)	1.32 (1.02-1.70)	1.39 (1.06-1.81)	1.36 (1.01-1.84)
CRP	Bottom third	930	32 (3.4)	1 [Reference]	1 [Reference]	1 [Reference]	1 [Reference]
	Middle third	831	31 (3.7)	1.08 (0.66-1.80)	1.06 (0.64-1.76)	1.06 (0.61-1.85)	1.01 (0.55-1.83)
	Top third	767	38 (5.0)	1.46 (0.90-2.36)	1.39 (0.82-2.34)	1.62 (0.96-2.71)	1.25 (0.67-2.34)
	Linear trend	2528	101 (4.0)	1.21 (0.95-1.54)	1.18 (0.90-1.53)	1.28 (0.98-1.66)	1.12 (0.82-1.53)
Psychotic disorder at age 18 y							
IL-6	Bottom third	887	9 (1.0)	1 [Reference]	1 [Reference]	1 [Reference]	1 [Reference]
	Middle third	842	8 (1.0)	0.93 (0.36-2.43)	0.95 (0.36-2.48)	0.63 (0.18-2.16)	0.53 (0.13-2.14)
	Top third	793	18 (2.3)	2.26 (1.01-5.07)	2.36 (1.03-5.39)	2.39 (0.97-5.91)	2.40 (0.88-6.22)
	Linear trend	2522	35 (1.4)	1.58 (1.03-2.42)	1.61 (1.04-2.49)	1.69 (1.03-2.78)	1.73 (1.00-3.03)
CRP	Bottom third	930	10 (1.1)	1 [Reference]	1 [Reference]	1 [Reference]	1 [Reference]
	Middle third	831	16 (1.9)	1.80 (0.81-4.00)	1.77 (0.79-3.98)	1.45 (0.57-3.70)	1.31 (0.47-3.65)
	Top third	767	9 (1.2)	1.09 (0.44-2.70)	1.06 (0.40-2.80)	1.25 (0.46-3.36)	0.92 (0.28-2.99)
	Linear trend	2528	35 (1.4)	1.05 (0.70-1.58)	1.05 (0.67-1.63)	1.12 (0.70-1.79)	0.97 (0.55-1.70)

Tabelle 5-6: sono riportate le misure di associazione (OR) tra i livelli di IL-6 e CRP a 9 anni e l'insorgenza di depressione (tabella 5, in alto) o esperienze psicotiche/disturbo psicotico (tabella 6, in basso). In entrambi i casi le variabili sono state associate tenendo conto di vari fattori potenzialmente in grado di condizionare i livelli di IL-6 e CRP: l'indice di massa corporea (modello 1), problemi psicologici o comportamentali misurati a 7 anni (modello 2), i precedenti oltre all'età, il sesso, la classe sociale, l'etnia, e la depressione post-parto della madre (modello 3). Per quanto riguarda la distribuzione dei valori della proteina C-reattiva, i cut-off per l'ultimo e il primo terzile sono rispettivamente 0,13 e 0,33 mg/L.

I risultati mostrano che il rischio di sviluppare depressione o forme di psicosi a 18 anni è direttamente proporzionale ai livelli di IL-6 rilevati a 9 anni. L'odds ratio aggiustato per potenziali fattori di disturbo indica che coloro che si trovano nel terzile più alto della distribuzione dei valori dell'IL-6 hanno molte più probabilità di cadere in una condizione di depressione (OR=1,55, modello 3, tabella 5), avere esperienze psicotiche (OR=1,81, modello 3, tabella 6) o sviluppare un disturbo psicotico (OR=2,40, modello 3, tabella 6) rispetto a coloro che si trovano nel terzile più in basso. L'associazione tra i livelli dell'interleuchina 6 e la depressione è stata trovata anche utilizzando altri due cut-off alternativi per il CIS-R (8 e 9) e l'MFQ. In tutti e tre i casi non è stata tuttavia trovata un'associazione significativa per quanto riguarda i livelli di CRP.

Possibile reversibilità degli effetti infiammatori

Da quanto visto in questo capitolo emerge che lo stress cronico nella prima infanzia può attivare il sistema immunitario in senso infiammatorio, e che una consistente attivazione immunitaria ad età precoci può condurre a condizioni patologiche in età adulta. Date le circostanze, oltre a cercare di sottrarre il bambino a queste situazioni avverse, è senza dubbio necessario sviluppare e diffondere pratiche che possano contrastare gli effetti deleteri delle Early life adversities. A tal proposito alcuni studi documentano gli effetti anti-infiammatori di alcune pratiche meditative e psicoterapeutiche. Uno di questi (Thaddeus W.W. Pace, 2013) ha esaminato gli effetti del Cognitively-Based Compassion Training (CBCT), una pratica meditativa derivante dalla tradizione Buddhista tibetana con l'obiettivo di generare empatia e compassione verso sé e gli altri e quindi promuovere comportamenti che riducano lo stress. 71 adolescenti appartenenti al centro affidi in Georgia a causa di abbandono, abuso fisico o sessuale ecc. sono stati assegnati casualmente a due condizioni per 6 settimane: la prima prevede di sottoporsi al CBCT, l'altra è una condizione di controllo. I partecipanti erano sani e facevano uso di farmaci anti-infiammatori. Il gruppo sperimentale ha frequentato dodici lezioni di meditazione della durata di un'ora, con una frequenza di due a settimana, ed ha ricevuto un CD guida per la pratica meditativa a casa, con l'istruzione di effettuare 30 minuti di esercizio al giorno. Sia il gruppo sperimentale che il gruppo di controllo hanno fornito campioni di saliva al risveglio prima e dopo le sei settimane, sui quali sono stati misurati i valori

della proteina C-reattiva come segnale dell'inflammatione. Prima e dopo le sei settimane sono stati rilevati anche i livelli di depressione e ansia, rispettivamente tramite il **Quick Inventory of Depressive Symptomatology (QIDS)** e lo **State-Trait Anxiety Inventory (STAI)**. I partecipanti del gruppo CBCT hanno inoltre compilato un diario giornaliero in cui indicare se si sono esercitati a casa, quante volte e per quanto tempo, e se hanno partecipato alle lezioni. Dei 71 partecipanti iniziali 16 non hanno tuttavia completato il protocollo previsto dallo studio e sono stati esclusi dalle analisi. I partecipanti dei due gruppi che hanno completato lo studio sono piuttosto omogenei in termini di età, sesso, livelli di CRP iniziali, indice di massa corporea, punteggi al QIDS e allo STAI. Utilizzando l'ANOVA, gli autori non hanno trovato un effetto significativo del gruppo, del tempo né dell'interazione tra gruppo e tempo sui livelli di CRP nell'arco delle sei settimane. Tuttavia, tra coloro che hanno effettuato il CBCT e hanno fornito tutte le indicazioni sulla pratica giornaliera, la riduzione nei livelli di CRP è significativamente associata al numero di sessioni di pratica del CBCT ($r = -0.58$, $p = 0.002$, $n = 26$). Quest'associazione è riportata in figura 6.

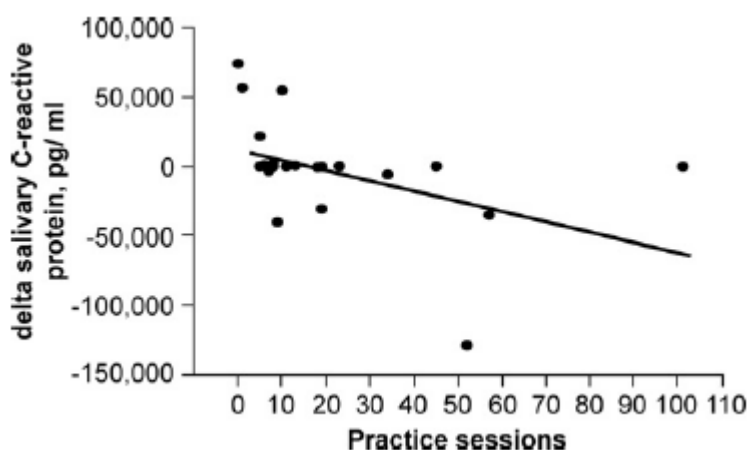


Figura 6

I punteggi al QIDS nel corso delle sei settimane sono diminuiti in tutti i partecipanti, mentre i punteggi allo STAI non sono sostanzialmente cambiati in funzione del tempo; questi ultimi sono comunque leggermente più bassi nel gruppo CBCT rispetto al gruppo di controllo sia prima che dopo lo studio. L'associazione tra sessioni di pratica e livelli di CRP rimane ad ogni modo significativa anche controllando per i cambiamenti nei punteggi ottenuti ai due test. La mancanza di un effetto del gruppo sui livelli di CRP dimostra che la semplice esposizione al CBCT attraverso lezioni settimanali non è sufficiente a indurre modifiche rilevanti nel funzionamento immunitario, ma è l'impegno profuso nella pratica giornaliera ad essere efficace. Se da un lato questi risultati documentano effetti anti-infiammatori di questa pratica meditativa, dall'altro manca nel presente studio un follow-up a distanza di anni che permetta di verificarne la stabilità.

L'indice di lunghezza dei telomeri come marcatore dello stress nell'infanzia

I telomeri, situati alle estremità dei cromosomi, sono strutture costituite da sequenze esanucleotidiche (TTAGGG nell'uomo) ripetute migliaia di volte con il compito di proteggere le estremità dei cromosomi dalla degradazione e dalla fusione coda-coda. Dal momento che la replicazione del DNA porterebbe naturalmente all'accorciamento dei telomeri e alla conseguente perdita di materiale genetico, nelle cellule eucariotiche l'enzima telomerasi impedisce che ciò avvenga assicurando la duplicazione dell'intero DNA. La telomerasi è particolarmente attiva nelle cellule germinali ma lo è molto meno nella maggior parte dei tessuti somatici, determinando in queste ultime la diminuzione della lunghezza dei telomeri con i cicli successivi di replicazione (Neri, 2014). Negli anni Settanta è stato ipotizzato che l'accorciamento avvenga fino a un certo limite (limite di Hayflick, pari a circa 50 replicazioni), raggiunto il quale la cellula è ormai in una fase di senescenza che la porta alla morte (I. Shalev, 2013). Un'ampia mole di studi recenti ha esaminato gli effetti dello stress nella prima infanzia sulla lunghezza dei telomeri come indicatore dell'invecchiamento cellulare. L'attivazione cronica del sistema nervoso simpatico e/o dell'asse dello stress, così come l'attivazione infiammatoria, potrebbero danneggiare i telomeri incrementando lo stress ossidativo nella cellula o diminuendo ulteriormente l'attività della telomerasi; alcuni sostengono che lo stress induca modifiche epigenetiche a livello di geni coinvolti nel mantenimento dei telomeri (Michael J. McFarland, 2018). E' inoltre possibile che l'infiammazione acceleri l'erosione telomerica stimolando la proliferazione cellulare e quindi le divisioni mitotiche (I. Shalev, 2013). Le conseguenze biologiche di questo accorciamento possono essere distruttive poiché aumentano il rischio di mutazioni genetiche.

In uno studio pubblicato quest'anno (Michael J. McFarland, 2018) è stata esaminata l'associazione tra le Early Life Adversities sperimentate prima dei 18 anni e la lunghezza dei telomeri dei leucociti in età adulta su un campione di 1108 soggetti proveniente dal Nashville Stress and Health Study. Gli autori hanno preso in considerazione 32 possibili situazioni traumatiche, e la loro presenza ad età inferiori a 18 anni è stata verificata retrospettivamente attraverso un'intervista ai partecipanti adulti. Il campione è stato inoltre stratificato in base all'etnia (popolazione nera o bianca) e all'età (tra 22 e 45 anni e tra 46 e 69), entrambi fattori che potrebbero avere un effetto sulla lunghezza dei telomeri (per quanto riguarda il primo caso gli autori ipotizzano che le persone di colore debbano affrontare maggiori situazioni stressanti come la discriminazione su base razziale). Le analisi di regressione forniscono tuttavia relazioni significative tra le ELA e la lunghezza dei telomeri solo per il gruppo dei giovani adulti, laddove ogni evento stressante aggiuntivo corrisponde a una piccola riduzione telomerica ($b = -0.007$, $p = 0.003$); per coloro tra il 46 e i 69 anni non emerge una relazione significativa tra le due variabili. Inoltre nessun effetto è stato riscontrato per quanto

riguarda l'etnia, poiché sia per i soggetti bianchi che per quelli di colore il coefficiente di regressione non è significativo. Secondo gli autori, il fatto che non sia emersa associazione tra esperienze stressanti prima dei 18 anni e lunghezza dei telomeri negli adulti oltre i 45 anni potrebbe essere dovuto a errori nel richiamo di quegli eventi. Dato il lungo intervallo temporale tra il momento in cui si è verificata l'esperienza e il momento del ricordo, questi soggetti potrebbero aver omesso alcuni episodi o averne riportati alcuni che sono in realtà avvenuti da adulti. Va inoltre menzionato un possibile effetto coorte dovuto al fatto che i partecipanti tra i 46 e i 69 hanno vissuto in un periodo di maggior prosperità rispetto ai più giovani. In un altro studio (I. Shalev, 2013) lo stesso argomento viene affrontato con un disegno longitudinale, perché secondo gli autori il processo di accorciamento telomerico è complesso e richiede misure ripetute sugli stessi soggetti piuttosto che una sola rilevazione ad una certa età (è stato osservato che la lunghezza dei telomeri è molto variabile, e che talvolta può addirittura aumentare). Solo in questo modo è infatti possibile stimare le modifiche subite dai telomeri nel corso del tempo in risposta allo stress; in uno studio come quello visto in precedenza non è chiaro se l'erosione si sia verificata contemporaneamente al periodo stressante oppure successivamente, causata da altre variabili. Shalev et al. hanno basato le loro analisi su 236 dei 2232 membri dell'Environmental-Risk (E-Risk) Study, che comprende gemelli nati da 1116 famiglie in Inghilterra e Galles tra il 1994 e 1995. I ricercatori hanno incontrato le famiglie per condurre interviste alle madri o al caregiver (quando i bambini avevano 5, 7 e 10 anni) e prelevare campioni di DNA dai figli (quando questi avevano 5 e 10 anni). Durante le interviste è stata verificata la presenza di tre tipi di violenze che potrebbe aver sperimentato il bambino: esposizione a violenza domestica tra la madre e il partner (17% dei casi), bullismo (24.2% dei casi) e violenza fisica subita da un adulto (26.7% dei casi). Considerando assieme i tre tipi di violenza è stato ottenuto un indice cumulativo da cui risulta che il 54.2% dei soggetti non ha assistito a o ricevuto nessuno dei tre tipi violenze, il 19.2% ne ha sperimentate una, il 16.5% almeno due. Molti dei casi esaminati nel corso dello studio erano sotto sorveglianza da parte della polizia o dei servizi sociali, e alcuni bambini al momento del follow-up erano stati già sottratti alle famiglie e assegnati a un centro affido. Dai risultati emerge che coloro che hanno sperimentato due o più tipi di violenza mostrano un'erosione telomerica significativamente più rapida rispetto a coloro che hanno vissuto una sola esperienza violenta o nessuna ($b = -0.052$, $s.e. = 0.021$, $p = 0.015$) (figura 7). Quest'associazione rimane significativa dopo aver controllato per il livello di salute del bambino e l'asma.

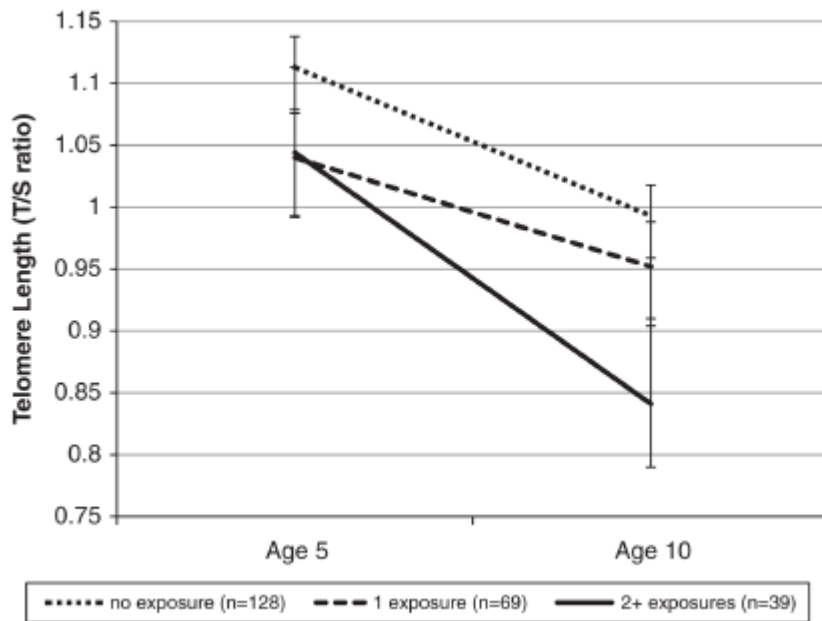


Figura 7

In linea con precedenti studi longitudinali, in alcuni bambini (16.9% del campione) è stato riscontrato un allungamento telomerico, e tale effetto è quanto più consistente quanto più le porzioni telomeriche a 5 anni sono brevi (figura 8).

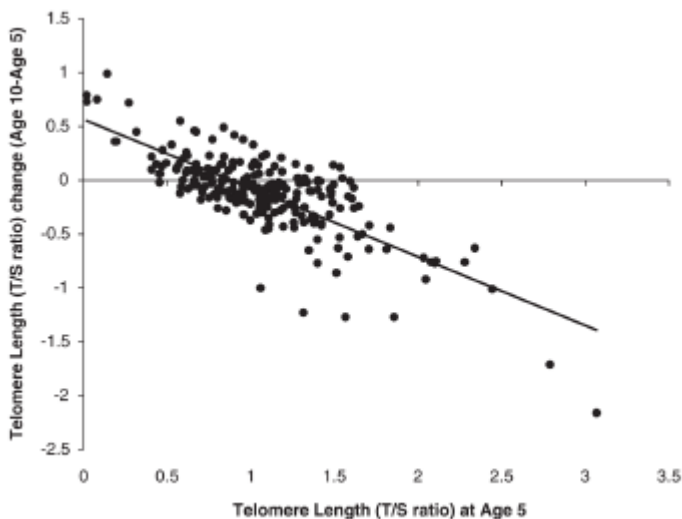


Figura 8

Non essendo chiaro come interpretare questo risultato, forse dovuto a meccanismi diversi da quelli che governano l'accorciamento dei telomeri, l'associazione tra l'esposizione a due o più tipi di violenza ed erosione telomerica è stata nuovamente testata eliminando dal campione coloro che hanno mostrato un allungamento. Anche in questo caso essa è significativa ($b = -0.057$, $s.e. = 0.024$, $p = 0.019$). Il presente studio dimostra quindi che lo stress in infanzia induce un cambiamento a

livello dei telomeri piuttosto rapidamente poiché si osservano effetti significativi già a dieci anni di età. Da più parti viene sottolineata l'importanza di considerare queste porzioni nucleotidiche altamente ripetitive come un marcatore affidabile nel valutare gli effetti delle ELA già in età infantile e prevenire rischi futuri.

Bibliografia

Abul K. Abbas, A. H. (2015). *Le basi dell'immunologia*. Milano: Edra.

Ader, R. (2000). On the development of psychoneuroimmunology. *European Journal of Pharmacology*, 167-176.

Andrea Danese, B. S. (2012). Adverse childhood experiences, allostasis, allostatic load, and age-related disease. *Physiology & Behaviour*, 29-39.

Andrea Danese, C. M. (2007). Childhood maltreatment predicts adult inflammation in a life course-study. *PNAS*, 1319-1324.

Andrea Danese, S. J. (2017). Psychoneuroimmunology of Early-Life Stress: The Hidden Wounds of Childhood Trauma? *Neuropsychopharmacology*, 99-114.

Angelika Bierhaus, J. W. (2003). A mechanism converting psychosocial stress into mononuclear cell activation. *PNAS*, 1920-1925.

B.M. Lidy Verburg-van Kemenade, N. C. (2017). Neuroendocrine-immune interaction: Evolutionarily conserved mechanisms that maintain allostasis in an ever-changing environment. *Developmental and Comparative Immunology*, 2-23.

Besedovsky, H. (1986). Immunoregulatory Feedback between Interleukin-1 and Glucocorticoid Hormones. *Science*, 652-654.

Bottaccioli, F. (2005). *Psiconeuroendocrinoimmunologia*. Milano: Red edizioni.

Bottaccioli, F. (2014). *Epigenetica e psiconeuroendocrinoimmunologia* (II ed.). Milano: Edra.

Chryssikopoulos, A. (1997). The Relationship between the Immune and Endocrine Systems. *Annals Of New York Academy Of Sciences*, 83-93.

Golam M. Khandaker, R. M. (2014). Association of Serum Interleukin 6 and C-Reactive Protein in Childhood With Depression and Psychosis in Young Adult Life: A Population-Based Longitudinal Study. *JAMA Psychiatry*, 1121-1128.

- I. Shalev, T. M. (2013). Exposure to violence during childhood is associated with telomere erosion from 5 to 10 years of age: a longitudinal study. *Mol Psychiatry*, 576-581.
- Ian C. G. Weaver, N. C. (2004). Epigenetic programming by maternal behaviour. *Nature neuroscience*, 847-854.
- Martha M.C. Elwenspoek, A. K. (2017). The effects of early life adversity on the immune system. *Psychoneuroendocrinology*, 140-154.
- Megan Gunnar, K. Q. (2007). The Neurobiology of Stress and Development. *Annual Review of Psychology*, 145-173.
- Megan R. Gunnar, S. J. (2001). Salivary cortisol levels in children adopted from Romanian orphanages. *Development and Psychopathology*, 611-628.
- Michael J. McFarland, J. T. (2018). Stressful life events in early life and leukocyte telomere length in adulthood. *Advances in Life Course Research*, 37-45.
- Neri, G. (2014). *Genetica Umana e Medica*. Milano: Edra.
- S. Marc Breedlove, M. R. (2009). *Psicologia biologica*. Milano: Casa Editrice Ambrosiana.
- Staci D. Bilbo, J. M. (2009). Early-life programming of later-life brain and behavior: a critical role for the immune system. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 3(14).
- Steinman, L. (2004). Elaborate interactions between the immune and nervous systems. *Nature immunology*, 5(6).
- Thaddeus W.W. Pace, L. T.-L.-d. (2013). Engagement with Cognitively-Based Compassion Training is associated with reduced salivary C-reactive protein from before to after training in foster care program adolescents. *Psychoneuroendocrinology*, 294-299.
- Webster, G. R. (2009). Cytokines and the immunomodulatory function of the vagus nerve. *British Journal of Anaesthesia*, 453-462.