



**UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA**

Dipartimento di Salute della Donna e del Bambino

---

**SCUOLA DI DOTTORATO DI RICERCA IN MEDICINA DELLO SVILUPPO E  
SCIENZE DELLA PROGRAMMAZIONE  
INDIRIZZO SCIENZE DELLA PROGRAMMAZIONE  
CICLO XXVII**

**STRESS E MALTRATTAMENTO:  
ASPETTI MORFOLOGICI, BIOCHIMICI E FUNZIONALI  
DELL'IMPATTO DI EVENTI STRESSANTI ACUTI E  
CRONICI SULLA SALUTE E SULLO SVILUPPO  
DEL MINORE E DELLA FAMIGLIA**

**Direttore della Scuola:** Ch.mo Prof. Giuseppe Basso

**Coordinatore di indirizzo:** Ch.ma Prof.ssa Paola Facchin

**Supervisore:** Ch.ma Prof.ssa Paola Facchin

**Dottorando:** Eleonora Sgaravatti



# INDICE

<b>RIASSUNTO</b> .....	<b>7</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>8</b>
<b>INTRODUZIONE</b> .....	<b>9</b>
<b>1. LO STRESS: DEFINIZIONI E BASI TEORICHE</b> .....	<b>9</b>
1.1 <i>Etimologia e linguaggio comune</i> .....	9
1.2 <i>Definizione del fenomeno</i> .....	11
1.2.1 La Sindrome Generale di Adattamento (GAS) .....	12
1.2.2 Fight-or-flight response, omeostasi e carico allostatico .....	14
1.2.3 Stress e coping .....	16
1.3 <i>Una particolare forma di stress: il maltrattamento</i> .....	17
1.3.1 Il maltrattamento: un problema di Igiene e Sanità Pubblica .....	18
1.3.2 Classificazione diagnostica del maltrattamento .....	19
1.3.2.1 Il maltrattamento fisico .....	21
1.3.2.2 L'abuso psico-emozionale .....	21
1.3.2.3 L'abuso sessuale .....	22
1.3.2.4 Il neglect o trascuratezza grave .....	23
1.3.2.5 Altre tipologie di maltrattamento .....	25
1.3.3 Epidemiologia del maltrattamento: prevalenza, incidenza e outcome .....	28
1.4 <i>Stress e salute: necessità di un approccio olistico</i> .....	32
<b>2. LA RISPOSTA FISIOLÓGICA ALLO STRESS: IL SISTEMA NERVOSO AUTONOMO E L'ASSE IPOTALAMO-IPOFISI-SURRENE</b> .....	<b>35</b>
2.1 <i>La componente simpatica del Sistema Nervoso Autonomo (SNA)</i> .....	36
2.2 <i>L'asse Ipotalamo-Ipofisi-Surrene (HPA)</i> .....	38
2.3 <i>La risposta neuroendocrina allo stress: il cortisolo</i> .....	41
2.3.1 Cenni storici: la scoperta del Composto F .....	41
2.3.2 Classificazione degli ormoni corticosteroidi .....	43
2.3.3 Biosintesi degli ormoni corticosteroidi .....	44
2.3.4 Clearance del cortisolo .....	47
2.3.5 Azioni del cortisolo .....	50
2.3.6 Regolazione della secrezione del cortisolo .....	53
2.3.7 Il ritmo circadiano del cortisolo .....	55
2.4 <i>Misurazione biochimica dello stress: metodi d'indagine dell'asse HPA</i> .....	58
2.4.1 Cortisolo ematico .....	59
2.4.2 Cortisolo urinario .....	60
2.4.3 Cortisolo salivare .....	61
2.4.4 Rapporto cortisolo/cortisone salivare e ulteriori metodi di indagine .....	64
<b>3. STRESS CRONICO E NEUROIMAGING</b> .....	<b>66</b>
3.1 <i>Neurobiologia dello stress</i> .....	66
3.2 <i>Analisi di post-processing delle Risonanze Magnetiche Cerebrali</i> .....	71
3.2.1 Acquisizione delle immagini .....	75
3.2.2 Tecniche di ricostruzione delle fibre .....	76
<b>4. STRESS E MALTRATTAMENTO: L'IMPATTO SULLA SALUTE E SULLO SVILUPPO</b> .....	<b>78</b>
4.1 <i>L'impatto biochimico</i> .....	80
4.1.1 Effetti sul sistema neuro-endocrino .....	81
4.1.2 Effetti sul sistema immunitario .....	86
4.2 <i>L'impatto neurocerebrale</i> .....	90
4.2.1 Corpo calloso .....	91
4.2.2 Ippocampo .....	92
4.2.3 Amigdala .....	93
4.2.4 Corteccia prefrontale .....	94
4.2.5 Cervelletto .....	95
4.2.6 Corteccia cingolata anteriore .....	96

4.2.7 Alterazioni di sostanza bianca .....	96
<b>4.3 L'impatto funzionale</b> .....	<b>100</b>
4.3.1 Conseguenze a breve, medio e lungo termine.....	101
4.3.2 Area intellettiva.....	104
4.3.2.1 QI e Ritardo Mentale .....	104
4.3.2.2 Disturbi della memoria .....	107
4.3.2.3 Disturbi dell'attenzione.....	108
4.3.3 Area affettiva.....	109
4.3.3.1 Disturbi dell'umore.....	110
4.3.3.2 Disturbi d'ansia.....	111
4.3.4 Area relazionale e comportamentale.....	112
4.3.4.1 Disturbo da deficit di attenzione/iperattività (ADHD).....	113
4.3.4.2 Disturbo della Condotta (DC) .....	114
4.3.4.3 Comportamenti sessualizzati.....	114
4.3.5 Area intrapsichica.....	115
4.3.5.1 Il trauma .....	117
4.3.5.2 Io, Sé e relazioni oggettuali .....	118
4.3.5.3 Sequele psicopatologiche versus riparazione.....	120
<b>4.4 L'impatto sul nucleo familiare: la famiglia maltrattante</b> .....	<b>120</b>
<b>OBIETTIVI DELLO STUDIO</b> .....	<b>123</b>
<b>MATERIALI E METODI</b> .....	<b>125</b>
<b>1. IL CENTRO REGIONALE PER LA DIAGNOSTICA DEL BAMBINO MALTRATTATO</b> .....	<b>125</b>
1.1 Storia e attività del Centro .....	125
1.2 Istituzione del Centro e attività svolta.....	126
<b>2. DISEGNO DELLO STUDIO E CASISTICA</b> .....	<b>128</b>
<b>3. IL CORTISOLO SALIVARE</b> .....	<b>129</b>
3.1 Controlli .....	132
<b>4. NEUROIMAGING</b> .....	<b>134</b>
4.1 Acquisizione delle immagini .....	135
4.2 Trattografia .....	135
4.3 Segmentazione .....	136
<b>5. PROVE FUNZIONALI</b> .....	<b>137</b>
5.1 Child Behavior CheckList (CBCL).....	137
5.2 Parenting Stress Index (PSI) o Indice dello Stress Genitoriale.....	141
5.3 Symptom Checklist-90-Revisited (SCL-90-R) .....	143
<b>6. ANALISI STATISTICHE</b> .....	<b>145</b>
<b>RISULTATI</b> .....	<b>151</b>
<b>1. RISULTATI BIOCHIMICI</b> .....	<b>151</b>
1.1 Descrittiva anagrafica della casistica cortisolo .....	151
1.2 Analisi descrittiva dell'andamento del cortisolo.....	157
1.2.1 La Cortisol Awakening Response (CAR) .....	161
1.2.2 Confronto con i controlli sani.....	163
1.2.3 Analisi dell'associazione tra il cortisolo e alcune variabili diagnostiche .....	168
<b>3. RISULTATI FUNZIONALI</b> .....	<b>173</b>
3.1 Descrittiva anagrafica della casistica generale .....	173
3.2 Descrittiva dei risultati relativi al funzionamento del minore (CBCL) .....	179
3.3 Descrittiva dei risultati relativi allo stress genitoriale (PSI) .....	183
3.4 Analisi dell'associazione tra il funzionamento del bambino e lo stress genitoriale .....	185
3.5 Descrittiva dei risultati relativi alla salute psicologica del genitore (SCL-90-R).....	189
3.6 Analisi dell'associazione tra il funzionamento del bambino e la salute psicologica dei genitori.....	195

3.7 <i>Analisi dell'associazione tra il funzionamento del bambino e la CAR</i> .....	198
3.8 <i>Analisi multivariata</i> .....	199
<b>4. RISULTATI MORFOLOGICI</b> .....	<b>202</b>
<b>DISCUSSIONE E CONCLUSIONI</b> .....	<b>208</b>
<b>ALLEGATO A</b> .....	<b>218</b>
<b>BIBLIOGRAFIA</b> .....	<b>220</b>



## RIASSUNTO

**Introduzione:** Il maltrattamento ai minori è un fenomeno caratterizzato dalla presenza di episodi acuti che tendono a reiterarsi in una condizione di cronicità. La risposta allo stress, pur rappresentando un meccanismo fisiologico essenziale alla sopravvivenza dell'organismo, può comportarne il deterioramento, con impatto dannoso sulla salute globale e sullo sviluppo.

**Obiettivi:** Valutare se la condizione di stress cronico con esacerbazioni episodiche a poussées, determinata dal maltrattamento ai minori, può provocare delle conseguenze patologiche sulla salute e sullo sviluppo del minore, a livello morfologico, biochimico e funzionale.

**Materiali E Metodi:** Disegno: Studio prospettico sul profilo di indicatori morfologici, biochimici e funzionali di minori con diagnosi di maltrattamento. Popolazione: Coorte di bambini con diagnosi di maltrattamento e rispettivi genitori, afferenti al Centro per la Diagnostica del Bambino maltrattato, Dip.to di Salute della Donna e del Bambino dell'Azienda Ospedaliera di Padova (gennaio-dicembre 2014; 4-17aa). I pazienti sono stati sottoposti a: misurazioni biochimiche (n=43), con studio del ciclo circadiano del cortisolo salivare mediante tampone Salivette®; misurazioni morfologiche (n=43) con RM 3T DTI e ricostruzione trattografica di fasci di sostanza bianca di aree implicate nella risposta allo stress; misurazioni funzionali (n=94; 0-17aa; 2012-2014) con valutazioni cognitive, comportamentali e affettive, e della psicopatologia e dello stress del genitore (CBCL; SCL-90R; PSI). Analisi statistiche: descrittive, univariate, bivariate e multivariate.

**Risultati:** A *livello biochimico* si è riscontrata un'elevata variabilità inter-individuale dei cicli circadiani di cortisolo salivare, con una generale tendenza all'appiattimento, da un lato, e con alcuni picchi particolarmente elevati, dall'altro. Le CAR presentano tendenze negative e piane, oltre che positive; le CAR negative si associano alla precocità e severità del maltrattamento. A *livello funzionale* è stata rilevata una compromissione del funzionamento dei pazienti maltrattati, con coesistenza di problemi internalizzanti ed esternalizzanti. I livelli di stress genitoriale al PSI sono elevati e la salute psicologica dei genitori all'SCL-90-R risulta compromessa principalmente nelle scale di somatizzazione e ostilità. A *livello morfologico* è stato elaborato un algoritmo sperimentale per analizzare trattograficamente le aree cerebrali compromesse.

**Discussione:** A livello morfologico, lo studio delle alterazioni microstrutturali dei fasci di sostanza bianca può contribuire a una maggiore comprensione dei meccanismi patogenetici alla base dei disturbi funzionali associati al maltrattamento. A livello biochimico, le alterazioni osservate possono rappresentare una fase intermedia di un processo di adattamento dell'asse HPA in cui, in condizioni croniche, si assiste a un progressivo appiattimento circadiano di cortisolo. A livello funzionale, è stato confermato quanto sia dannoso l'impatto psico-evolutivo del maltrattamento minorile, data la compromissione funzionale riscontrata e i livelli clinici e borderline di stress e psicopatologia del genitore.

**Conclusioni:** Il maltrattamento ai minori rappresenta una grave forma di stress che determina un impatto sullo sviluppo del bambino a livello morfologico, biochimico e funzionale. Tale impatto pregiudica gravemente il fisiologico e armonioso sviluppo del paziente pediatrico e della sua famiglia.

## ABSTRACT

**Background:** Child Abuse&Neglect (CAN) is a phenomenon characterized by acute episodes which tend to repetition within a chronic context. Stress response is a physiological mechanism essential to the survival and deeply conserved in the phylogeny. In the long term, its chronic activation can lead to a deterioration of the organism.

**Objectives:** To determine whether the condition of chronic stress with episodic exacerbations, determined by CAN, may cause pathological consequences on global health and development of child and adolescent. These consequences have been evaluated at morphological, biochemical and functional level.

**Materials And Methods:** Design: perspective study on morphological, biochemical and functional markers' profile in CAN child. Population: Cohort of children and adolescents with a diagnosis of CAN and their parents, belonging to CAN Center, Dep. of Women and Children Health, Hospital of Padua (Jan 2013-Dec 2014). Patients were subjected to: biochemical measurements (n=43), with circadian cycle of salivary cortisol study using buffer Salivette®; morphological measurements (n=43), with RM 3T DTI and trattografic reconstruction of white matter tracts of the areas involved in stress response; functional measurements (n=94; 0-17aa; 2012-2014), with cognitive, behavioral and affective assessment, parents' psychopathological and stress (CBCL; SCL-90R; PSI). Statistical analysis: Descriptive, univariate, bivariate and multivariate.

**Results:** At biochemical level there has been a high inter-individual variability of salivary cortisol circadian cycles, with a general trend to a flattening of CAR. CAR with negative trend are associated with earliness and severity of CAN. At functional level it was detected impairment in abused patients, especially in terms of anxiety, withdrawal, depression and aggression, with coexistence of externalizing and internalizing problems. PSI scores are high and SCL-90-R scores too, mainly in the scales of somatization and hostility. At morphological level were identified brain areas affected in the repeated activation of the stress response: corpus callosum, forceps minor, forceps major and fornix.

**Discussion:** At morphological level, the study of microstructural abnormalities of white matter tracts may contribute to a greater understanding of the pathogenic mechanisms underlying the functional disorders associated with child maltreatment. At biochemical level, the observed alterations may represent an intermediate stage of an adaptation process of the HPA axis in which, in chronic conditions, there is a progressive flattening of circadian cortisol levels. At functional level, it was confirmed how harmful is CAN psycho-developmental impact, given the global functional impairment observed and the clinical levels of stress and psychopathology of parents.

**Conclusions:** CAN is a serious form of stress that causes an impact on child and adolescent development at morphological, biochemical and functional levels. This impact will seriously affect the physiological and harmonious development of the pediatric patient and his family.



# INTRODUZIONE

“Una teoria scientifica non è altro che un punto d'appoggio inventato nel caos dei fenomeni viventi.” Wilhelm Reich,

## 1. LO STRESS: DEFINIZIONI E BASI TEORICHE

Lo stress è un processo adattivo che s'innescia di fronte a un cambiamento esterno o interno, definito “*stressor*” o “evento stressante”, che minaccia l'equilibrio omeostatico dell'organismo, dando avvio a una sequenza complessa di risposte che mira a ripristinare l'equilibrio perduto. Nonostante l'attuale accordo generale su tale concezione, dare una precisa definizione del concetto di stress risulta tuttora problematico. Il retaggio popolare intrinseco nel concetto di stress e l'interesse esercitato da esso su diverse branche del sapere sono elementi che probabilmente hanno contribuito a una sua più difficile definizione anche in ambito scientifico. Ciononostante, ormai da diversi decenni, la letteratura scientifica ha trovato un accordo nel definire lo stress attraverso l'individuazione delle situazioni che lo rendono riconoscibile e delle cause per le quali esso esercita una così importante influenza nelle esperienze di vita di un individuo.<sup>1</sup>

### 1.1 Etimologia e linguaggio comune

Il termine “stress” deriva dalla radice indoeuropea “*str*”. Il vocabolo greco “*strangalizein*”, con il suo derivato inglese “*to strangle*”, e il latino “*strigere*”, con il suo derivato italiano “*stringere*”, hanno le loro origini in un passato molto lontano.<sup>2</sup> Nella sua accezione più recente, il termine “*stress*” può rimandare etimologicamente al verbo latino “*dstringo, dstringis, dstringi, districtum, dstringere*” che significa “*stringere*” o “*strizzare*”, letteralmente “*comprimere*” o “*legare*”, e anche “*tirare*”, “*impedire*”, “*stancare*”, “*disturbare*”, e al sostantivo “*districtio, -onis*” che significa “*ostacolo*”, “*impedimento*”, “*difficoltà*”, “*castigo*”.<sup>3</sup> Adottato poi dal francese antico, il vocabolo è stato introdotto nel XIV sec. nella lingua inglese con il termine “*distress*” che aveva il significato di

“*sforzo, tensione, pressione*” con riferimento allo stimolo fisico e al contesto ambientale.<sup>4</sup> Il suo uso nella lingua italiana deriva proprio dalla voce inglese “*distress*” di cui “*stress*” rappresenta la forma aferetica. Etimologicamente il significato del termine rimanda a “*una stretta, una strizzata, un'angustia, un'angoscia*”.

Al di là della sua etimologia, il termine “*stress*” ha rivestito nel corso dei secoli diversi significati. Prima che venisse accolto nella lingua italiana, il vocabolo aveva già subito nella lingua inglese un'evoluzione semantica, che l'aveva allontanato dall'accezione originaria, conferendogli una nuova connotazione. Nel XV sec. “*stress*” indicava l'accento tonico di una parola o l'enfasi nel pronunciarla; nel XIX sec. una tensione o pressione fisica, applicata su qualsiasi oggetto materiale; nel XX sec. un sovraccarico di un organo o una pressione ambientale. E' solo a partire dal XX sec. che il termine viene usato per indicare una condizione interiore dell'individuo.

Il vocabolo “*stress*” è per la lingua italiana un apporto piuttosto recente, che si è diffuso per la prima volta nel Paese, all'interno della comunità scientifica, in occasione di un ciclo di conferenze tenute dal professor Hans Selye (1907-1982), verso la metà degli anni '50. La diffusione della parola “*stress*” nel linguaggio corrente comincia negli stessi anni e in riferimento alla stessa occasione, quando un quotidiano diffonde la notizia delle scoperte del medico austriaco Selye, che con le sue teorie aveva «rivoluzionato la scienza medica moderna», studiando le dolorose alterazioni dell'equilibrio emotivo e dell'affaticamento psicofisico, nonché le cause che lo determinano. Semplice e senza particolari regole di pronuncia, la parola “*stress*” ebbe subito fortuna nel linguaggio comune, facendo nascere una serie di derivati, quali “*stressare*”, “*stressante*”, “*stressato*”. A livello colloquiale, esso ha dato luogo ad impieghi incongrui, o superflui, e tuttora è utilizzato in maniera imprecisa per descrivere esperienze che mettono alla prova l'individuo dal punto di vista emotivo. A differenza del linguaggio comune, che utilizza innanzitutto la sua accezione negativa, cioè l'essere stressati, con riferimento ad esperienze in cui alla persona vengono a mancare il senso di controllo e di padronanza (“*distress*”), nel linguaggio scientifico esso ha anche valenza positiva, quando è connesso ad esperienze di breve durata, che una

persona riesce a padroneggiare, che lasciano un senso di euforia e di soddisfazione per aver raggiunto un traguardo (“*eustress*”).<sup>5</sup>

## 1.2 Definizione del fenomeno

La concezione moderna di stress, inteso come una combinazione di forze esterne e risposte interne, e un suo studio fenomenico da parte della letteratura scientifica internazionale, si fa strada nel XIX secolo. William Shaw Mason nel suo *Statistical Account of Ireland* (1814-1819) racconta che “poveri, in particolare donne, morivano in gioventù, di quello che chiamavano stress, cioè un violento colpo di calore da duro lavoro”. Fino ad allora, il termine era stato utilizzato principalmente in fisica e in ingegneria per indicare lo sforzo cui vengono sottoposti i materiali quando sono soggetti all’azione di forze fisiche.

Il concetto di stress in medicina è da riferirsi, secondo alcuni studiosi, al fisiologo americano Walter Cannon, che lo descrisse per la prima volta nel 1935 indicando una reazione d’allarme dell’organismo indotta da uno stimolo esterno e associandolo al concetto di omeostasi. Altri studiosi, invece, fanno risalire la nascita del termine alle teorie del medico austriaco Hans Selye, che nel 1936, con una lettera alla rivista *Nature*, pone le premesse per la definizione scientifica moderna dello stress, da cui procederà la successiva ricerca medica in tale ambito.

<sup>6</sup> <sup>7</sup> I suoi esperimenti su modello animale hanno permesso di teorizzare la Sindrome Generale di Adattamento (*General Adaptation Syndrome - GAS*),<sup>8</sup> attraverso la quale lo scienziato austriaco indicava le tre fasi (identificazione dello stimolo, resistenza ed esaurimento) della risposta dell’organismo allo stress.

Tra i molti scienziati che seguirono, una delle principali scoperte sull’argomento si deve all’endocrinologo Hugo Besedovsky, che a metà degli anni ‘70 dimostrò il rapporto tra stress e deficit del sistema immunitario, causato dalla produzione di cortisolo in risposta allo stimolo stressante. Uno dei concetti fondamentali espressi da tali ricerche fu la correlazione tra stress e malattia, in quanto apparve chiaro da subito come l’esposizione a fattori stressanti fosse in grado di determinare un deficit delle difese immunitarie. L’interesse per questo tipo di ricerche crebbe esponenzialmente col passare degli anni, coinvolgendo diversi studiosi, fino ad arrivare, intorno agli anni ‘80, alla nascita della cosiddetta

psiconeuroimmunologia, basata su una stretta correlazione tra stress, sistema immunitario e sistema nervoso centrale (SNC). Teorie più recenti hanno dimostrato il ruolo delle fibre nervose, dei neuropeptidi e delle citochine nel veicolare le risposte fisiologiche alle condizioni di stress. Di pari passo con la ricerca sullo stress crebbero con un certo fermento anche gli strumenti di valutazione dello stesso. Il fermento nella produzione di nuovi questionari può essere attribuito, da un lato, al crescente interesse della comunità scientifica sull'argomento e, dall'altro, alla necessità di contrastare un fenomeno nocivo per la salute e in progressivo aumento a causa dalle trasformazioni socio-economiche, tecnologiche e commerciali (sesso e classi di età, gruppi etnici, ecc. ).

### **1.2.1 La Sindrome Generale di Adattamento (GAS)**

L'atto di battesimo dello "stress", inteso nel senso scientifico attuale, è uno studio di Hans Selye del 1936: *A syndrome produced by diverse noxious agents*. Con il termine "stress" Selye indicava "uno stato di tensione aspecifica della materia vivente, che si manifesta mediante trasformazioni morfologiche tangibili in vari organi, e particolarmente nelle ghiandole endocrine che stanno sotto il controllo dell'ipofisi anteriore".<sup>6</sup>

Nonostante gli importanti studi precursori, per i quali lo stress era essenzialmente il meccanismo di stimolo, Selye riserverò il termine "stress" alla condizione dell'essere vivente che subisce lo stimolo stressante, definito invece "stressor". Il ricercatore di origine austriaca definì come "stress" o "stress response" la risposta generalizzata non specifica dell'organismo di fronte a qualunque minaccia, esterna o interna; mentre "stressor" come un qualsiasi stimolo non specifico che produce uno stress. Secondo Selye, gli insiemi di meccanismi che costituiscono la "stress response" non sono influenzati dal tipo di stressor e rimangono invariati al variare degli stimoli stressanti, proprio perché si tratta di una "risposta non specifica".

La Sindrome Generale di Adattamento (GAS) rappresenta lo sviluppo cronologico della "stress response", quando l'azione dello "stressor", qualunque esso sia, è prolungata.<sup>9</sup> La GAS, in particolare, indica lo sforzo che un qualsiasi individuo, esposto a una situazione critica prolungata, deve compiere per adattarsi alla nuova

condizione. Essa è suddivisibile in tre diverse fasi temporali che si susseguono temporalmente e che sono in parte sovrapposte (Figura 1):<sup>10</sup>

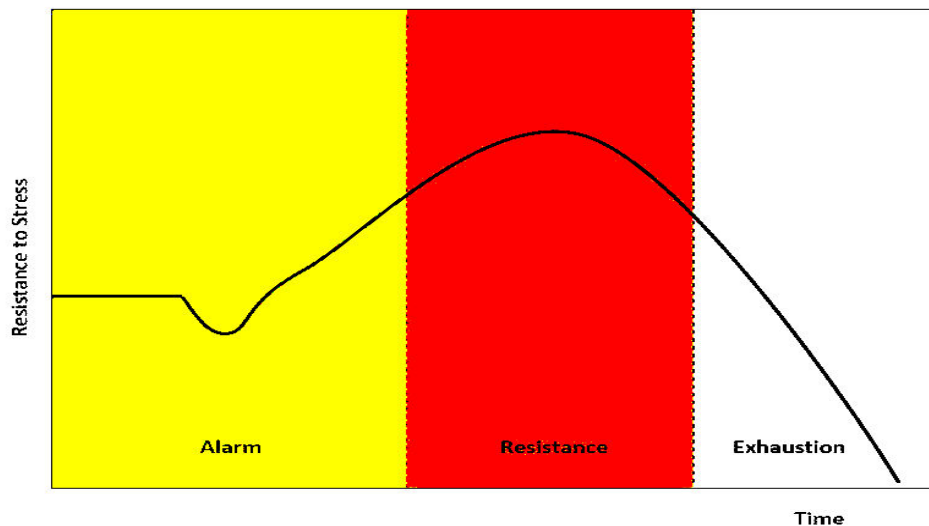


Figura 1 – Le tre fasi della Sindrome Generale di Adattamento (GAS)

- Fase 1: **Reazione generale d'allarme.** È la prima fase temporale in cui l'organismo, minacciato da uno stressor, mette in atto meccanismi di fronteggiamento (“ *coping* ”), sia fisici sia mentali. Essa è ulteriormente suddivisibile in due sotto fasi:
  - *Fase shock*: è la prima fase che cronologicamente si verifica di fronte a un evento stressante, caratterizzata da ipotensione arteriosa, riduzione del tono muscolare, ipotermia e ipoglicemia;
  - *Fase anti-shock*: è una fase acuta caratterizzata da cambiamenti opposti rispetto alla fase precedente, per cui a seguito dell'attivazione del sistema nervoso simpatico e del conseguente rilascio di adrenalina e noradrenalina, si registrano aumento della frequenza cardiaca, della pressione arteriosa, del tono muscolare, dei livelli ematici di glicemia, ed arousal (iperattivazione psicofisica); le alterazioni che si verificano in questa fase persistono nella successiva fase di resistenza.<sup>11</sup>
- Fase 2: **Resistenza.** Successivamente, se l'azione dello stressor perdura, il corpo reagisce attivando l'asse ipotalamo-ipofisi-surrene (HPA) nel tentativo di affrontare la minaccia e di adattarsi alla nuova condizione

avversa. In tale fase si noteranno quindi ipertrofia delle ghiandole surrenali e aumentato rilascio di glucocorticoidi, con conseguente intensificarsi della gluconeogenesi e indebolimento delle risposte immunitarie.

- Fase 3: **Esaurimento**. È la fase conclusiva che si verifica quando l'organismo termina le sue riserve funzionali e non riesce più a contrastare l'azione prolungata degli agenti stressanti. È infatti caratterizzata da atrofia della corticale del surrene e ipotensione arteriosa. L'esaurimento della capacità di risposta allo stress comporta dei danni a carico dell'organismo di tipo sia psichico sia somatico.<sup>9 12 13 14</sup>

La GAS, secondo Selye, è caratterizzata dalla triade costituita da: atrofia di linfonodi, milza e timo, ingrossamento delle ghiandole surrenali ed erosioni/ulcere gastriche. Tali segni si verificano indipendentemente dal tipo di stressor, ma in virtù della sua azione prolungata e a seguito dell'eccessiva attivazione dell'asse HPA. Intuito l'importante ruolo dei glucocorticoidi e dell'asse HPA nello stress, Selye negli anni '30 ha inoltre studiato ampiamente la struttura e l'attività di questi ormoni, giungendo alla prima classificazione razionale degli ormoni steroidei.<sup>8</sup> Al ricercatore di origine austriaca si deve dunque l'intuizione che un eccessivo o deficitario processo di adattamento durante una “*stress response*”, può provocare danni a lungo termine all'organismo.<sup>6 8 15</sup> Al contempo, egli riconobbe che lo stress non è una condizione necessariamente patologica e negativa, ma una reazione in primo luogo adattiva, poiché finalizzata a ristabilire o a mantenere l'equilibrio omeostatico.

### ***1.2.2 Fight-or-flight response, omeostasi e carico allostatico***

Gli studi di Selye, tuttora caposaldo della letteratura scientifica sullo stress, per quanto all'epoca innovativi, sono stati fortemente influenzati da alcuni altri studi scientifici di quello stesso periodo. Una particolare influenza è stata esercitata dalle ricerche del fisiologo statunitense Walter B. Cannon (1906-1942), che aveva incentrato le sue ricerche sul ruolo del sistema nervoso simpatico nell'adattamento e aveva coniato i termini “*fight-or-flight response*” (reazione di lotta o fuga) e “omeostasi”.<sup>15</sup>

Cannon, a sua volta, si era ispirato alla definizione di “*milieu intérieur*” elaborata dal fisiologo francese Claude Bernard (1813-1878), secondo cui, le caratteristiche fisico-chimiche del liquido extracellulare di un organismo, necessarie al normale funzionamento delle cellule, devono mantenersi costatamente fisse per garantire la vita dell’organismo stesso. Cannon aveva sviluppato quest’idea, sottolineando il dinamismo degli equilibri corporei; il concetto di omeostasi, infatti, prevede che l’organismo si mantenga attivamente in uno stato di equilibrio dinamico, in cui le variabili che caratterizzano l’ambiente interno possono modificarsi senza uscire da determinati accettabili *range* di cambiamento fisiologico.<sup>16</sup> A fronte di fattori esogeni o endogeni che perturbano tale equilibrio, l’organismo mette in atto meccanismi di difesa per ripristinare la situazione iniziale.<sup>15 17 18</sup>

Il concetto di *fight-or-flight response* è stato introdotto da Cannon dopo aver osservato come la fisiologia del sistema digerente fosse influenzata da situazioni di stress. In alcuni esperimenti sugli animali egli vide che, quando stimoli nocivi interni o ambientali minacciano l’omeostasi, il sistema nervoso simpatico e le ghiandole surrenali si attivano e rilasciano adrenalina. Tale constatazione portò Cannon a intuire che questi due meccanismi fanno parte di uno stesso sistema di risposta allo stress.<sup>16 18</sup>

All’evoluzione del concetto di stress contribuirono anche Sterling e Eyer (1988)<sup>19</sup> con i concetti di “allostasi” e di “carico allostatico” o “sovraccarico”. “Allostasi” (che letteralmente significa: “raggiungere la stabilità attraverso il cambiamento”) è il processo di mantenimento dell’omeostasi, attraverso il rilascio attivo di ormoni e mediatori dello stress, che proteggono l’organismo nel breve tempo e favoriscono un fenomeno di adattamento. Il “carico allostatico” o “sovraccarico” (espresso anche come “*wear and tear*”), invece, rappresenta il “danno”, il “logorio”, il “deterioramento” provocati nell’organismo dalla cronica attivazione del processo di allostasi stesso, da una sua inefficienza o da un irregolare funzionamento dei mediatori dello stress che, ad esempio, continuano ad essere prodotti anche quando non è necessario.<sup>5 20 21 22</sup> Di fronte a un evento stressante acuto, dunque, l’organismo risponde con la classica *flight-or-flight response*, essenziale per fronteggiare un pericolo nel breve periodo e mediare l’allostasi. Il

prolungato ripetersi di eventi stressanti però, conduce a una forma di stress cronico, che, col tempo, può provocare logorio dell'organismo.<sup>5</sup>

### ***1.2.3 Stress e coping***

In questo stesso periodo, traslando gli studi di Selye alle scienze psicologiche, Lazarus e Folkman nel 1984 approfondirono il funzionamento dello stress in ambito psichico.<sup>23</sup> Nel loro modello cognitivo-transazionale di “stress” e “*coping*” essi evidenziarono l'importanza della percezione soggettiva dell'evento stressante e l'abilità individuale di far fronte a esso. Secondo questa concezione, lo stress psicologico è l'esito di una particolare relazione tra la persona e l'ambiente, percepito soggettivamente dalla persona come gravoso e sproporzionato rispetto alle sue risorse o in grado di mettere in pericolo il suo benessere.<sup>16 24 25</sup>

Lo stress è per i due ricercatori la condizione derivante dall'interazione di variabili ambientali e individuali, che vengono mediate da variabili di tipo cognitivo. Esso viene quindi concettualizzato come elemento dinamico, a carattere relazionale che fonderà il concetto di “stress psicologico”. Con esso si sottolinea la componente soggettiva dell'evento stressante: l'elemento fondamentale che determina l'entità della reazione emozionale-fisiologica è la valutazione cognitiva che l'individuo compie del suddetto evento stressante.<sup>23</sup> In altre parole, nessun evento esistenziale significativo può essere considerato aprioristicamente patogenetico e, allo stesso tempo, ogni evento suscettibile di produrre una reazione emozionale potrebbe essere definito come avvenimento stressante.<sup>26</sup> Quindi, gli eventi sono stressanti nella misura in cui sono percepiti come stressanti, per cui uno stimolo produrrà o meno una reazione di *stress* a seconda di come viene interpretato e valutato.<sup>27</sup> Tuttavia, lo stress non è un'esperienza esclusivamente soggettiva, giacché la sua entità è definita anche dalle caratteristiche oggettive dello stimolo. La portata stressogena di un evento è pertanto determinata, oltre che dalla valutazione cognitiva dello stimolo compiuta dall'individuo, anche dalle caratteristiche oggettive dello stimolo, cioè dalla qualità dell'evento (come l'impatto emozionale che produce nel soggetto) e dalla sua quantità (come, per esempio, la durata temporale e la “vicinanza” con altri eventi che costituiscono una potenziale minaccia per l'equilibrio psico-fisico



dell'individuo). Infine, la portata stressogena di un evento è definita, oltre che dalla valutazione cognitiva e dalla percezione emotiva dello stimolo (valutazione primaria), anche dalla cosiddetta valutazione secondaria, ovvero dalla valutazione che un individuo compie delle proprie risorse e capacità di far fronte allo stimolo stressante, le cosiddette strategie di “*coping*”. In definitiva, per Lazarus e Folkman un evento sarà tanto più stressante quanto più l'individuo si percepirà inadeguato e incapace di fronteggiarlo.<sup>28 29</sup> Le strategie di *coping* sono, dunque, le modalità che definiscono il processo di adattamento a una situazione stressante, tuttavia esse non garantiscono il successo di tale adattamento. Infatti il *coping*, se è funzionale alla situazione, può mitigare e ridurre la portata stressogena dell'evento ma, se è disfunzionale ad essa, può anche amplificarla.

Più recentemente altri due ricercatori afferenti alle discipline psicologiche, Smith e Wallston (1994), hanno approfondito le diverse strategie di *coping* che gli individui possono mettere in atto di fronte a situazioni stressanti.<sup>30</sup> Secondo questi autori le diverse strategie di *coping* che un individuo ha a disposizione nel proprio bagaglio personale interagiscono tra loro nel determinare risultati positivi. In altre parole, il successo dell'adattamento allo stressor dipenderà dall'interazione tra i diversi stili di *coping* e dalla situazione a cui essa viene applicata. Ciò conduce alla considerazione che, in realtà, non esistono stili di *coping* adattivi o disadattivi a priori, in quanto strategie che possono risultare efficaci in una situazione, potrebbero non esserlo in un'altra e modalità reattive che risultano positive, se usate moderatamente e temporaneamente, possono divenire negative se usate in modo esclusivo.<sup>31</sup> La letteratura psicologica sull'argomento, tuttora molto attiva, sottolinea infine come l'elemento essenziale per un buon adattamento allo stress, soprattutto nel caso di eventi stressanti duraturi nel tempo, sia la flessibilità nell'uso delle strategie di *coping*, la capacità, cioè, di non irrigidirsi su un'unica strategia, ma di riuscire a cambiarla qualora la stessa si dimostri inefficace e disadattiva.

### **1.3 Una particolare forma di stress: il maltrattamento**

Lo stress può essere considerato come una minaccia, reale o potenziale, all'integrità fisica e/o psicologica di un individuo.<sup>32</sup> Un minore inserito in un

contesto maltrattante risulta esposto a continui traumi e stress fisici e/o psichici acuti e/o cronici, a seconda della specifica forma di maltrattamento di cui è vittima. Il maltrattamento tende a coniugare modalità differenti attraverso cui il perpetratore sfoga sul bambino o sull'adolescente un eccesso di stress che non riesce ad essere gestito diversamente. La comorbidità nel maltrattamento è solitamente elevata e le sue diverse manifestazioni tendono a coniugarsi l'un l'altra dando forma a contesti cronici e multiproblematici, con molteplici e articolate ripercussioni sul minore e sull'intero contesto familiare. Gli episodi di esacerbazione del maltrattamento e di reiterazione dello stesso costituiscono una caratteristica comune di questa diagnosi, proprio in considerazione di una marcata e gravosa incapacità da parte del perpetratore di controllare il proprio stile relazionale con l'altro (minore o adulto che sia), agendo l'aggressività scatenata da un incrinato equilibrio omeostatico personale. Il nucleo familiare, struttura che dovrebbe proteggere il minore in modo da consentirgli una crescita funzionale ed armonica, diventa così un ambiente insidioso e ostile che porta l'abusato a mettere in atto quei meccanismi di risposta allo stress finalizzati a salvaguardare il mantenimento del proprio equilibrio fisiologico per adattarsi alla condizione circostante, con grave pregiudizio per i processi di crescita e di sviluppo del minore coinvolto.

### ***1.3.1 Il maltrattamento: un problema di Igiene e Sanità Pubblica***

Il maltrattamento ai minori rappresenta un grave problema sanitario e, in quanto tale, necessita di un adeguato inquadramento in termini di Igiene e Sanità Pubblica. Quella del maltrattamento è, infatti, una difficile diagnosi medica, che spesso rischia di essere misconosciuta e che richiede un approccio multidisciplinare da parte di équipe specializzate. Considerato il caratteristico reiterarsi degli episodi di abuso all'interno di un contesto maltrattante, la fragilità dei pazienti in questione, le conseguenze che un vissuto di abuso può provocare in essi e il perpetrarsi delle condotte maltrattanti a livello transgenerazionale,<sup>33</sup> sembra essere funzionale uno sforzo di Sanità Pubblica volto a garantire un sistema di prevenzione e diagnosi precoce di questa grave patologia pediatrica.

Il rapporto europeo sulla prevenzione del maltrattamento dei bambini siglato dall'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) nel 2013, afferma infatti che una grande parte dei casi di maltrattamento nei bambini può essere prevenuto attraverso un approccio di Salute Pubblica.<sup>34</sup> Tale settore ha, infatti, un importante ruolo da svolgere nello sviluppare servizi di supporto per fornire ai bambini vittime di abuso, prevenzione e protezione sufficienti, trattamento e cura, servizi di supporto legale e di riabilitazione fisica e psicosociale.<sup>35</sup> Nell'ottica di garantire una risposta olistica e multidisciplinare alla prevenzione, diagnosi e cura di queste condizioni morbose, si dovrebbe provvedere a fornire servizi di presa in carico sia per le vittime che per i perpetratori.<sup>36</sup>

Il primo studioso che ha contribuito alla sensibilizzazione su tale problematica è stato il pediatra statunitense Henry Kempe, che nel 1962 ha pubblicato un lavoro sul *Journal of the American Medical Association*, introducendo per la prima volta il concetto di “*battered child syndrome*” per definire i casi di minori vittime di maltrattamento fisico.<sup>37 38</sup> Nel marzo 1999, a Ginevra, in occasione della *Consultation on Child Abuse Prevention*, organizzata dall'OMS e dal *Global Forum for Health Research*, un gruppo multidisciplinare di esperti ha definito le basi nosologiche per la classificazione diagnostica del maltrattamento del minore. In tale sede è stata concettualizzata una definizione completa ed esaustiva del maltrattamento ai minori, tuttora vigente, che si basa su un concetto di salute promulgato dall'OMS, che la intende come “uno stato di benessere fisico, psichico e sociale, e non solamente l'assenza di malattia o infermità.”<sup>39</sup> La definizione di maltrattamento, costruita a partire da questo imprescindibile concetto, include “ogni forma di maltrattamento fisico e/o psico-emozionale, abuso sessuale, trascuratezza, negligenza, sfruttamento commerciale o altro che comporti un danno attuale, potenziale o evolutivo per la salute del bambino, per la sua sopravvivenza, per il suo sviluppo o per la sua dignità, nell'ambito di una relazione caratterizzata da responsabilità, fiducia o potere.”<sup>35 40</sup>

### ***1.3.2 Classificazione diagnostica del maltrattamento***

La diagnosi medica di maltrattamento è attualmente compresa nella Classificazione Internazionale delle Malattie (ICD – *International Classification*

of Diseases)<sup>41</sup>, periodicamente stilata dall'OMS al fine di fornire uno strumento diagnostico clinico per una standardizzazione della gestione dell'igiene pubblica e degli studi statistici ed epidemiologici a livello mondiale. L'ICD viene utilizzato per monitorare l'incidenza e la prevalenza del maltrattamento ai minori e valutarne l'associazione con altre variabili, tra cui le circostanze e le caratteristiche dei bambini, degli adolescenti e delle famiglie colpite. Il maltrattamento ai minori è inserito nell'ICD per la prima volta nel 1975, anno in cui veniva stilata la nona versione del manuale, l'ICD-9. In esso al maltrattamento ai minori era assegnato il codice 995.5 corrispondente all'etichetta diagnostica di “*Child maltreatment syndrome*”, la quale includeva diverse diagnosi di maltrattamento, come riportato in Tabella 1.

<b>ICD-9 Child maltreatment syndrome 995.5</b>	
<b>Codice</b>	<b>Diagnosi</b>
995.50	Child emotional/psychological abuse
995.52	Child neglect (nutritional)
995.53	Child sexual abuse
995.54	Child physical abuse Battered baby or child syndrome
995.55	Shaken infant syndrome
995.59	Other child abuse and neglect Multiple forms of abuse

**Tabella 1 – Diagnosi di maltrattamento e rispettivi codici previsti dall'ICD-9.**

Nella decima versione dell'ICD (ICD-10) approvata nel 1990 e utilizzata a partire dal 1994, il maltrattamento ai minori ha codice T74, corrispondente alla diagnosi generale di “*Adult and child abuse, neglect and other maltreatment*”, che comprende le sottocategorie diagnostiche riportate in Tabella 2.

<b>ICD-10 Adult and child abuse, neglect and other maltreatment T74</b>	
<b>Codice</b>	<b>Diagnosi</b>
T74.02	Child neglect or abandonment, confirmed
T74.12	Child physical abuse, confirmed
T74.22	Child sexual abuse, confirmed
T74.32	Child psychological abuse, confirmed
T74.4	Shaken infant syndrome
T74.9	Unspecified maltreatment, confirmed

**Tabella 2 - Diagnosi di maltrattamento e rispettivi codici previsti dall'ICD-10.**

La classificazione nosologica delle diagnosi mediche di maltrattamento prevede la distinzione nelle seguenti categorie diagnostiche: maltrattamento fisico, abuso psico-emozionale, abuso sessuale e neglect.

#### 1.3.2.1 Il maltrattamento fisico

È definito come l'esito di un danno fisico attuale, potenziale o evolutivo dovuto ad un agito, verificatosi sotto il controllo di un genitore o di un'altra figura che riveste un ruolo di responsabilità, fiducia o potere o. Genitori o persone legalmente responsabili del bambino eseguono o permettono che si eseguano lesioni fisiche che tendono a ripetersi nel tempo. Tali azioni comprendono: colpire, percuotere, prendere a calci, scuotere, mordere, strangolare, scottare, bruciare, avvelenare, soffocare. Le lesioni osservabili nei casi di maltrattamento fisico possono essere cutanee, viscerali, oculari e dello scheletro, e prevedono anche ustioni, intossicazioni e asfissie. Tutte queste lesioni possono comportare esiti vari, sino alla morte.<sup>57 35 42 43</sup> Il maltrattamento fisico, così come le altre forme di maltrattamento, può manifestarsi come un evento singolo anche se tende a ripetersi nel tempo.

#### 1.3.2.2 L'abuso psico-emozionale

Consiste nel non garantire al bambino un ambiente appropriato e supportivo al suo sviluppo e/o la presenza di una figura di attaccamento primario tale da permettergli di sviluppare uno stabile e completo range di competenze emotive e

sociali, commisurate al suo potenziale personale e al contesto della società a cui il bambino appartiene. Può inoltre instaurarsi a seguito di azioni compiute ai danni del minore, che causano, o hanno alta probabilità di causare, un danno alla sua salute e al suo sviluppo fisico, mentale, spirituale, morale o sociale. Si tratta dunque di un comportamento esercitato ai danni del bambino volto a umiliarlo, svalutarlo, sottoporlo a sevizie psicologiche, in modo continuativo e duraturo con frasi e comportamenti. Nell'abuso psico-emozionale il bambino viene: ignorato, rifiutato, isolato, terrorizzato, danneggiato, aggredito, oppresso. Le azioni dell'abuso psico-emozionale inoltre includono: lo sminuire, il denigrare, l'utilizzare il bambino come capro espiatorio, il minacciare, lo spaventare, il discriminare, il ridicolizzare, l'umiliare verbalmente e non, l'esigere troppo e in modo sproporzionato alle capacità e all'età del bambino, l'impartire consegne e ingiunzioni educative contraddittorie ed impossibili da rispettare, o altre forme non fisiche di trattamento ostile o rifiutante.<sup>35 57 44</sup> Nonostante la gravità del quadro clinico dell'abuso psico-emozionale, tale forma di maltrattamento è più difficile di altre da diagnosticare, poiché i segni nel bambino non sono facilmente identificabili.

#### 1.3.2.3 L'abuso sessuale

Consiste nel coinvolgimento del bambino in attività sessuali che egli non può pienamente comprendere e per le quali egli non è in grado di dare il proprio consenso e/o che violano i tabù sociali e i ruoli familiari. L'abuso sessuale si delinea quando tale attività è finalizzata al compiacimento o alla soddisfazione di bisogni e desideri di un adulto o di un altro minore che per età o sviluppo sia con la vittima in una relazione di responsabilità, fiducia o potere.<sup>57 35 44 45</sup> Le attività comprendono: penetrazione vaginale, anale e orale, "toccatore" dei genitali, masturbazione, pornografia. L'abuso sessuale consiste, quindi, in una situazione peculiare nella quale un adulto, dal quale il bambino si attende protezione e sostegno affettivo, approfitta di tale potere e fiducia, usando il bambino per il soddisfacimento dei propri impulsi. Lo scopo è rappresentato dal piacere erotico dell'abusante e il bambino non è visto come un essere fragile e bisognoso di tenerezza, bensì come un oggetto parziale, dotato delle stesse caratteristiche

dell'adulto, cioè della sua stessa passionalità. Il linguaggio del bambino, incentrato sul registro della tenerezza e dell'accudimento, viene sostituito da quello dell'adulto sessualmente maturo, incentrato sul registro della passionalità e dell'erotismo; la situazione viene così pervertita ad opera dell'abusante, travolgendo il mondo psichico infantile, immaturo e impreparato a fronteggiare un simile impatto. L'abuso sessuale può essere manifesto, assumendo la forma dello sfruttamento sessuale e della pornografia, oppure mascherato. In questo caso, si tratta di pratiche genitali inconsuete (quali lavaggi, ispezioni ripetute, applicazioni di creme), che nascondono perversioni o strutture fobico-ossessive o psicotiche di personalità dei genitori, responsabili dell'erotizzazione di questi comportamenti connotati da intrusività sessuale, la quale danneggia la coscienza e l'identità corporea e psichica del bambino.

#### 1.3.2.4 Il neglect o trascuratezza grave

In generale, la trascuratezza consiste nella carenza o nell'assenza di cure adeguate a garantire il normale sviluppo fisico, psichico e affettivo del bambino. Le omissioni riguardano pertanto diverse dimensioni essenziali al processo evolutivo del bambino: le cure materiali, l'affetto e l'ambiente relazionale, la dimensione sociale e educativa. Il neglect rappresenta pertanto il fallimento dei *caregivers* nel provvedere allo sviluppo del bambino in tutte le sue sfere di vita: salute, educazione, sviluppo emotivo, nutrizione, protezione e condizioni di vita sicura, in un contesto in cui le risorse risultano disponibili alla famiglia.<sup>35 57 44</sup> Il neglect presenta un ampio ventaglio di possibili manifestazioni, variando da quadri connessi a limitate competenze parentali a quadri causati da grave negligenza (criminale).

La grave e persistente negligenza nei confronti del bambino o l'incapacità di proteggerlo dall'esposizione ai pericoli (incluso il freddo o la fame) e l'insuccesso in alcune importanti aree dell'allevamento che porta a danni significativi per la salute e lo sviluppo (compreso un ritardo della crescita in assenza di cause organiche) definiscono la condizione di neglect. Il *National Child Abuse and Neglect* definisce la trascuratezza come "una forma di maltrattamento che vede un adulto (economicamente adeguato) che non presta le cure necessarie e appropriate

all'età del bambino". Non si tratta quindi di una valutazione sulle intenzioni o sui comportamenti dei genitori, ma sulla responsabilità condivisa dei genitori, della famiglia allargata e del contesto ambientale.

Questo modalità di maltrattamento ai minori, a sua volta, viene ripartita in tre ulteriori sottocategorie: la trascuratezza fisica, la trascuratezza educativa, la trascuratezza emotiva. Per trascuratezza fisica s'intende: ogni forma di rifiuto o di ritardo nel fornire al bambino cure mediche necessarie; il lasciarlo solo; il vestirlo in modo inadeguato all'età, al sesso, alla stagione; la disattenzione verso i pericoli che lo stesso possa incontrare; il non soddisfare le sue necessità primarie come alimentazione, vestiario e cure igieniche inadeguate. I bambini fisicamente trascurati possono presentare, in assenza di patologie mediche accertate, un ritardo della crescita, problemi alla vista, all'udito, ai denti, forme di cattiva o inadeguata alimentazione, scarsa igiene con dermatiti recidivanti, frequenti infortuni domestici, che si possono concretizzare nell'ingestione di sostanze tossiche e nella difficoltà a riconoscere il pericolo.

La trascuratezza educativa si verifica con l'inadempienza scolastica cronica, la mancata iscrizione alla scuola dell'obbligo e altri comportamenti che privano il bambino della frequenza regolare della scuola. I bambini che vivono in situazioni di trascuratezza sono, dunque, significativamente a rischio (rispetto ai bambini che non vivono in queste condizioni) di avere uno scarso rendimento scolastico che li può portare ad esperire fallimenti costanti.

Infine, la trascuratezza emozionale comprende la disattenzione costante e grave per le necessità affettive, l'insufficiente sostegno emotivo per il bambino, l'esporsi a momenti di violenza domestica, il rifiuto nel fornirgli le necessarie cure psicologiche, il non prestare attenzione all'insorgenza di eventuali comportamenti antisociali o patologici. I bambini emotivamente trascurati possono manifestare un ritardo psicomotorio e del linguaggio, iperattività, disturbi dell'attenzione, inibizione, demotivazione, stanchezza cronica, difficoltà di rapporto con i coetanei, precoce adultizzazione, tendenza alla depressione e mancanza di fiducia di base in se stessi e negli altri.

Vi è infine una quarta tipologia di trascuratezza: la trascuratezza ambientale, caratterizzata dal vivere in ambienti segnati dalla criminalità, dalla scarsa civiltà e



dalla mancanza di risorse culturali e sociali positive. I bambini che vivono in tali contesti possono, in età adulta, divenire soggetti antisociali, dediti all'uso di alcool o di sostanze.

#### 1.3.2.5 Altre tipologie di maltrattamento

Oltre alle quattro principali categorie diagnostiche appena descritte, ne sono state individuate altre che si contraddistinguono per la loro peculiarità e che rientrano nelle più ampie categorie diagnostiche appena esposte.

- **Shaken Baby Syndrome (SBS):** È una severa e peculiare forma di maltrattamento fisico che comprende un complesso di lesioni dovute al violento scuotimento di un lattante o di un bambino.<sup>46</sup> In alcuni casi, al concludersi dello scuotimento, il bambino può essere sbattuto contro una superficie rigida caratterizzando così il quadro dello *Shaken Impact*. Il maltrattamento inflitto al bambino genera gravi lesioni cerebrali a causa della rapida e ripetitiva flessione, estensione e rotazione del capo e del collo, strutture mobili e flessibili, attorno a una struttura rigida, il tronco, che esitano in forze rotazionali applicate all'encefalo. La coesistenza di una triade di fenomeni quali l'emorragia retinica (RH), gli ematomi sottodurali multifocali bilaterali (SDH) e l'encefalopatia sono fortemente suggestivi di SBS.<sup>47</sup> Anche questa tipologia di maltrattamento può presentarsi in maniera isolata o in associazione con altre forme di abuso o trascuratezza.<sup>48</sup>
- **Violenza assistita:** Nella sua definizione più ampia includiamo in tale categoria diagnostica tutti gli atti di violenza compiuti da esseri umani su esseri viventi, cui altri, di qualsiasi condizione ed età, assistono. Si comprendono così quelle situazioni determinate da azioni umane a danno di singoli, di gruppi, d'interi popolazioni, che possono esitare a breve, medio, lungo termine in cambiamenti di vita peggiorativi fino a portare le vittime alla morte psichica o fisica. Nella sua definizione più circoscritta, invece, per violenza assistita da minori s'intende una forma specifica di abuso psico-emozionale che consiste nell'obbligare il minore a fare esperienza di qualsiasi forma di maltrattamento, compiuto attraverso atti di violenza fisica, verbale, psicologica, sessuale ed economica, su figure di riferimento o su altre figure

affettivamente significative, adulte e minori. S'includono le violenze messe in atto da minori su altri minori e/o su altri membri della famiglia, e gli abbandoni e i maltrattamenti ai danni degli animali domestici. Tra le forme di maltrattamento cui il minore è esposto, solitamente, vi sono scene di aggressività o violenza verbale, fisica, sessuale tra persone che costituiscono per lui un punto di riferimento o su persone o animali a lui legate affettivamente.<sup>49</sup> Il bambino può fare esperienza di tali atti direttamente (quando avvengono nel suo campo percettivo), indirettamente (quando il minore ne è a conoscenza) e/o percependone gli effetti.

- **Sindrome di Munchausen per procura (*Munchausen syndrome by proxy* - MSBP):** Consiste in una particolare forma di patologia delle cure, l'ipercura, che insieme all'incuria e alla discuria costituiscono parte non certo trascurabile dei maltrattamenti ai minori. Nelle patologie delle cure i genitori o le persone legalmente responsabili non provvedono adeguatamente ai bisogni fisici e psichici in relazione al momento evolutivo e all'età del minore. Nell'incuria l'accudimento è assente, nella discuria è inadeguato e nell'ipercura è eccessivo o estremo. La MSBP è una forma specifica di ipercura nella quale un adulto falsifica dei segni o sintomi fisici o psicologici facendo sì che il bambino sia considerato malato. Se nel neglect il genitore fa mancare al bambino le cure necessarie mettendo in atto una condizione di discuria o incuria, nella sindrome di Munchausen per procura il genitore attua un'ipercura del bambino, provocando attivamente condizioni morbose, fingendone la presenza o falsificandone la diagnosi.<sup>50</sup> La ragione di questi agiti va ricercata nella gratificazione che il perpetratore riceve dall'ambiente medico, dalle indagini diagnostiche e dai trattamenti terapeutici cui il bambino è infine sottoposto. Questi comportamenti prescindono da incentivi esterni, come ad esempio vantaggi economici, rappresentando invece delle gratificazioni narcisistiche del genitore, il quale necessita di alimentare e concretizzare l'immagine di figlio malato.<sup>51 52 44</sup> L'adulto perpetrante il maltrattamento è un genitore o un *caregiver* che intenzionalmente falsifica le informazioni, riferisce o provoca sintomi per utilizzare il bambino allo scopo di soddisfare i propri bisogni psicologici. Il genitore perpetrante è spesso egli

stesso vittima in infanzia di MSBP e presenta problematiche di stampo psichiatrico, che sono al tempo stesso conseguenza dell'abuso subito e causa dell'abuso esercitato sul figlio. Il bambino, infatti, viene utilizzato come oggetto di soddisfacimento, quasi si volesse realizzare un trasferimento di malattia da sé sul bambino, per assumere il ruolo di protagonista che richiede protezione, cura, attenzione. Le modalità dell'abuso possono essere differenti: simulazione di malattia; aggravamento riferito o procurato nel corso di una malattia reale; provocazione dei sintomi di una malattia non presente. Possono essere riferiti i sintomi più svariati, spesso un insieme di sintomi che risulta difficile inserire nel corredo sintomatologico di una malattia, tra cui: apnea (26%), anoressia e problemi alimentazione (24,6%), diarrea (20%), crisi convulsive (17,5%), cianosi (11,7%), disturbi del comportamento (10,4%), asma (9,5%), allergia (9,3%), febbre (8,6%), dolori (8%), infezioni varie (7,5%), sanguinamenti (6,2%).<sup>53</sup> Il genitore inventa, simula o produce sintomi e segni che inducano i clinici a sottoporre il bambino ad accertamenti e indagini alla ricerca di una causa. Segni e sintomi possono essere prodotti (30%) o solo denunciati (19%); in una buona percentuale di casi vi è una somministrazione di farmaci al bambino (35%) che può provocare determinati segni e sintomi. Le conseguenze sul piano fisico possono avere gravità diverse, da sofferenze limitate al periodo dell'abuso a disabilità permanenti, fino alla morte; le conseguenze sul piano psicologico sono sempre devastanti, come nella maggior parte delle forme di maltrattamento.

- Sfruttamento: lo sfruttamento commerciale o di altro genere di un minore si riferisce all'impiego del bambino nel lavoro o in altre attività di guadagno altrui. Ciò include, ma non si limita a, lavoro e prostituzione.<sup>35</sup> Questo genere di attività conduce a detrimento fisico o di salute mentale, di educazione, o di sviluppo spirituale, morale o socio-emozionale del bambino. Questa sotto tipologia diagnostica tocca trasversalmente diverse diagnosi principali a seconda delle effettive modalità di concretizzazione; solitamente rappresenta una forma peculiare di abuso sessuale o psico-emozionale.

Com'è già stato sottolineato, tra le varie tipologie di maltrattamento esiste una forte comorbilità, in quanto la loro patogenesi è simile. È quindi frequente trovare

bambini con quadri complessi in cui si riscontrano maltrattamenti multipli;<sup>54</sup> ad esempio, la diagnosi di trascuratezza si associa spesso a quella di abuso psico-emozionale.<sup>55</sup>

Infine, un'altra classificazione importante in tema di maltrattamento è la distinzione che si compie a seconda di chi lo perpetra; in generale se un membro interno alla cerchia familiare della vittima, oppure esterno ad essa. A tal proposito, il maltrattamento si distingue in:

- Intra-familiare: attuato dai membri della famiglia (genitori, patrigni, conviventi, fratelli) o membri della famiglia allargata (nonni, zii, cugini, amici intimi della famiglia);
- Extra-familiare: attuato da persone estranee al nucleo familiare, ma spesso conosciute dal minore (vicini di casa, conoscenti);
- Istituzionale: quando gli autori del reato sono figure di riferimento esterne al contesto familiare ma inserite nella rete sociale del bambino (maestri, educatori, bidelli, allenatori, medici, assistenti di comunità ecc.);
- Gruppi Organizzati a fini di lucro da singoli o gruppi criminali: si tratta, ad esempio, di organizzazioni per la produzione di materiale pornografico o per lo sfruttamento della prostituzione ed agenzie per il turismo sessuale o di gruppi organizzati esterni al nucleo familiare quali sette e gruppi, ad esempio di pedofili.

### ***1.3.3 Epidemiologia del maltrattamento: prevalenza, incidenza e outcome***

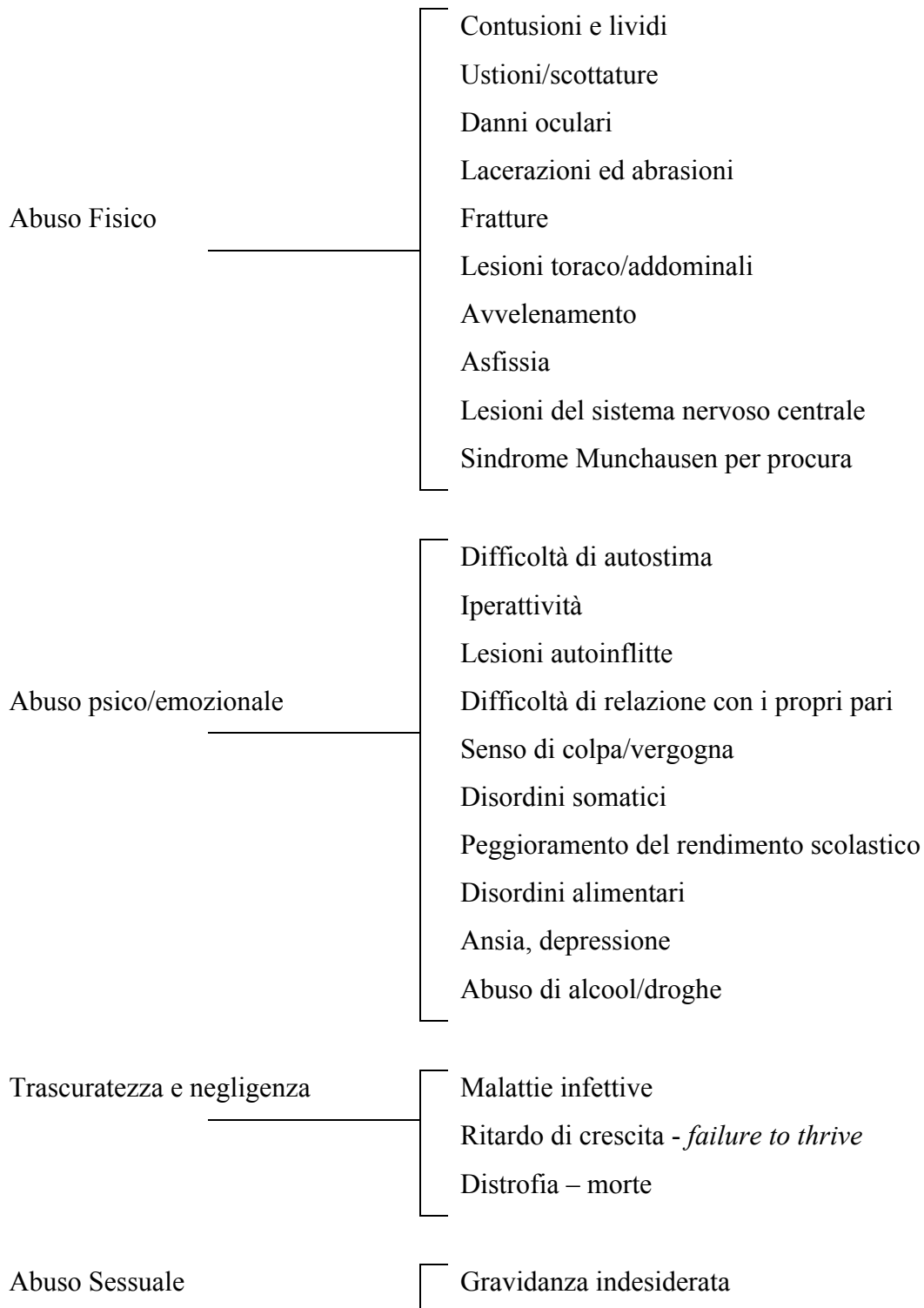
Secondo il rapporto europeo sulla prevenzione del maltrattamento ai bambini (OMS 2013), almeno 850 bambini sotto i 15 anni muoiono ogni anno a causa di maltrattamenti.<sup>34</sup> Le indagini di popolazione, svolte sia in Europa che in altri paesi, hanno confermato l'estensione del fenomeno del maltrattamento. Queste indagini indicano una prevalenza del 9.6% per l'abuso sessuale (13.4% nelle bambine e 5.7% nei bambini), del 22.9% per l'abuso fisico e del 29.1% per l'abuso psico-emozionale, questi ultimi senza una significativa differenza di genere. Vi sono pochi studi disponibili sul fenomeno della trascuratezza grave ma le analisi di ricerche svolte in tutto il mondo dimostrano che la prevalenza è alta: 16.3% per la trascuratezza fisica e 18.4% per quella psicologica. Applicando

questi dati alla popolazione dei bambini in Europa si giunge a una stima di 18 milioni di bambini che soffrono di abuso sessuale, 44 milioni di abuso fisico e 55 milioni di abuso psicologico. Nei paesi europei sono però necessari ulteriori studi, condotti periodicamente e con metodi omogenei, per comprendere meglio non solamente la dimensione del problema ma anche i fattori di rischio e gli esiti a lungo termine. I dati epidemiologici finora raccolti, infatti, sono da considerarsi prevalentemente sottostimati. La causa di ciò è da attribuirsi a molteplici fattori tra cui l'esistenza di diverse definizioni del fenomeno, la variabilità dei metodi di raccolta e delle fonti, la frequente scarsa attendibilità dei dati raccolti, la diversa disponibilità e abilità del personale medico nel riconoscere il maltrattamento tra le diagnosi e, soprattutto, l'ingente numero di casi che non arrivano ai servizi o che non vengono segnalati e diagnosticati. In generale, tuttavia, le stime sino ad ora disponibili dimostrano l'emergenza del fenomeno del maltrattamento infantile.

I fattori di rischio per il maltrattamento ai minori comprendono: genitori giovani, *singol*, con bassi livelli educativi e appartenenti a comunità svantaggiate, oltre che norme sociali che giustifichino le punizioni corporali, alti livelli di disegualianza, stress economico e insufficiente legislazione. Il maltrattamento può provocare, a breve e a lungo termine, gravi effetti sulla salute e sullo sviluppo di un individuo (Tabella 3), con un impatto negativo sia sui costi del sistema socio-sanitario che sulla produttività economica nazionale.<sup>35 56 57</sup> Un vissuto infantile caratterizzato da abuso e neglect è, infatti, un fattore di rischio in termini di mortalità, e di sviluppo di svariate patologie e disabilità in età adulta, relative a diverse sfere, da quella emozionale, a quella fisica, sociale e sessuale.<sup>35 58 59 60 61 62 63 64 57</sup> Il maltrattamento ai minori è ad esempio la causa principale dell'insorgenza di psicopatologia: è associato al 44% delle psicopatologie esordite durante lo sviluppo e circa al 30% di quelle esordite più tardi nel corso della vita.<sup>65</sup>

Considerate le diverse forme, circostanze e conseguenze della violenza, risultano evidenti l'importanza e la delicatezza di questo tema. Lo studio del maltrattamento ai minori ha avuto un approccio innanzitutto di tipo statistico, limitato all'analisi dei dati sulla mortalità in relazione a cause ed età. Le morti per violenza non sono che la punta di un iceberg e danno solamente un'idea generale delle reali dimensioni del problema. I dati sulla morbilità e su altre conseguenze

come le disabilità sono scarsi e gli attuali sistemi di sorveglianza non sono sempre in grado di diagnosticare un abuso di minore.<sup>35</sup> Pare quindi vantaggioso e d'interesse collettivo, per i sistemi sanitari nazionali, studiare delle adeguate strategie di prevenzione, screening e diagnosi di questo grave fenomeno.<sup>57 66</sup>



	<ul style="list-style-type: none"> <li>HIV/AIDS/ malattie sessualmente trasmesse</li> <li>Morbilità causata da esiti avversi di salute riproduttiva</li> </ul>
Conseguenze lungo termine	<ul style="list-style-type: none"> <li>Conseguenze sullo sviluppo</li> <li>Disabilità</li> <li>Disordini alimentari</li> <li>Abuso di alcool/droghe</li> <li>Ansia, depressione</li> <li>Delinquenza, comportamenti violenti</li> <li>auto-distruttività</li> <li>condotte rischiose</li> <li>accreciuta probabilità di divenire genitore abusante</li> <li>esiti avversi di salute riproduttiva a lungo termine</li> <li>Disfunzioni sessuali</li> <li>Infertilità</li> </ul>
Conseguenze fatali	<ul style="list-style-type: none"> <li>Omicidio</li> <li>Suicidio</li> <li>Infanticidio</li> <li>AIDS</li> <li>IVG sesso dipendente</li> <li>Mortalità causata da esiti avversi di salute riproduttiva</li> </ul>

**Tabella 3 - Conseguenze dell'abuso sulla salute dei minori.** <sup>67 68 69 70 71 72 73</sup>

Tutto ciò che ostacola la crescita armonica del bambino e dell'adolescente può essere definito "abuso di minore" e comprende comportamenti, intenzionali o meno, sia di natura commissiva, come il maltrattamento fisico, l'abuso sessuale e psico-emozionale, che di natura omissiva, come l'incapacità di fornire cure materiali ed emozionali adeguate ai bisogni del bambino, con atteggiamenti

negligenti all'origine di situazioni di trascuratezza grave.<sup>74 75 76 77</sup> I dati statistici sulla diffusione dei traumi infantili, nonché l'impatto di questi sulla salute fisica e psichica nel breve e nel lungo termine impongono la necessità di approfondire la ricerca in quest'ambito.

#### **1.4 Stress e salute: necessità di un approccio olistico**

La risposta allo stress è un sistema biologico sviluppatosi nel corso di milioni di anni di evoluzione. La sua presenza in una molteplicità di organismi, dai procarioti agli eucarioti, dai vegetali agli animali, dagli invertebrati ai vertebrati, dai pesci ai mammiferi, dai ratti agli umani, è la prova del suo valore nel processo di adattamento dell'organismo all'ambiente.<sup>78</sup> L'omeostasi fisiologica di ogni organismo è un equilibrio dinamico mantenuto dall'interconnessione di vari processi biologici e dalla sua interazione con l'ambiente. Quando questo equilibrio è perturbato, sono attivate delle risposte automatiche nel tentativo di ripristinare lo status iniziale; di fronte a uno stressor s'innescano quindi una serie di eventi a cascata che coinvolgono l'organismo a livello tanto cellulare quanto sistemico.

Più è ostile l'ambiente, più è necessario il sistema di risposta allo stress.<sup>1</sup> Sebbene costituisca una risposta innata adattiva, infatti, l'attivazione ripetuta della risposta allo stress può aumentare il rischio di sviluppare nel corso dell'esistenza problemi che mettono a rischio la sopravvivenza dell'organismo e la sua qualità di vita. Numerosi studi sul modello animale e umano hanno dimostrato che eventi avversi precoci sono associati a un rischio maggiore di *outcome* negativi in diverse aree di funzionamento dell'organismo, incidendo negativamente sul suo adattamento all'ambiente e quindi sul suo stato di salute globale. Gli studi sull'uomo hanno evidenziato che l'impatto delle reazioni fisiologiche allo stress sullo sviluppo dell'individuo potrebbe costituire un'importante chiave per comprendere come esperienze di vita negative aumentino il rischio di sviluppare patologie organiche<sup>79 80</sup> e disturbi psichici, comportamentali e affettivi nel corso della vita.<sup>81</sup> Nell'ultimo decennio sono state individuate nuove tecniche per studiare il possibile impatto di tali avversità sulle strutture e sul funzionamento cerebrale.<sup>82</sup>

83 84



Gli eventi stressanti, ovvero le minacce alla salute, fisica e psichica, sono inevitabili nella vita di qualunque organismo. Gli individui però differiscono profondamente nella frequenza con cui fanno esperienza di eventi stressanti e nella vulnerabilità o resilienza che dimostrano di fronte ad essi.<sup>81</sup> Alcuni studi hanno evidenziato come gli individui reagiscano in modo differente se sottoposti ai medesimi stress. I concetti di coping, vulnerabilità e resilienza spiegano come ciascun organismo, con il suo peculiare bagaglio genetico, inserito in un determinato ambiente, cioè con il suo specifico insieme di fattori protettivi e di rischio, reagisce a eventi stressanti acuti e cronici. Alcuni studi recenti hanno misurato l'impatto biologico di avversità ambientali tenendo in considerazione le differenze genetiche che possono veicolare la risposta allo stress e aumentare la probabilità di resilienza o di vulnerabilità dell'individuo. È probabile che una complessa interazione tra esperienze ambientali e il patrimonio genetico dell'individuo influenzi lo sviluppo neurobiologico e, quindi, complessivo dell'individuo.<sup>85</sup>

Il maltrattamento nelle sue molteplici manifestazioni (maltrattamento fisico, abuso sessuale, abuso psico-emozionale, neglect, SBS, MSBP, violenza assistita...), costituisce un evento avverso ad elevata valenza stressante, rappresentando un ambito applicativo elettivo per lo studio dell'impatto di stress acuti e cronici. Negli ultimi anni, numerosi studi hanno analizzato l'impatto neurobiologico delle esperienze precoci di maltrattamento sullo sviluppo e sulla salute dell'individuo, nel breve e nel lungo termine. Si è assistito a una crescente attenzione su tale ambito di ricerca, soprattutto grazie allo sviluppo delle neuroscienze, che con specifiche metodologie s'impegnano a studiare lo sviluppo neurobiologico in modelli animali e umani. Le più recenti scoperte documentano in generale cambiamenti sostanziali, sia strutturali che funzionali, nello sviluppo cerebrale di soggetti sottoposti a maltrattamento in età evolutiva, offrendo un'importante testimonianza sul ruolo che l'abuso infantile ricopre nell'insorgenza di successive patologie, sia organiche che psichiche.<sup>86</sup>

Molti studi in questo specifico ambito di ricerca sono concordi nell'individuare alcune peculiari alterazioni a livello biologico, neuroendocrino e neuroanatomico.

A livello biologico e neuroendocrino si evidenzia un'alterazione dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrenale (HPA), con concentrazioni compromesse rispetto alla norma dell'ormone rilasciante la corticotropina (CRH), dell'arginina vasopressina (AVP), dell'ormone adrenocorticotropico (ACTH) e del cortisolo.<sup>84</sup> Tali studi, però, non sono sempre concordi rispetto al tipo di alterazione biologica osservata: alcuni evidenziano un'ipoattivazione mentre altri un'iperattivazione del sistema HPA. Sono diverse le possibili spiegazioni di tali apparenti contraddizioni, le quali mettono in luce la necessità di studiare più approfonditamente l'argomento. Inoltre, mentre esiste un generale accordo sul fatto che il maltrattamento minorile comporti un'alterazione dell'asse HPA, i meccanismi specifici attraverso i quali tale disregolazione possa mediare l'associazione tra stress e patologia rimane ad oggi sconosciuta.<sup>87</sup>

A livello neuroanatomico, un corpo crescente di studi sull'argomento concorda nell'affermare che il maltrattamento in età evolutiva influenza le strutture neurali e il loro funzionamento.<sup>85</sup> Tali studi hanno valutato sia bambini che adulti con diagnosi di maltrattamento minorile, ovvero gli effetti a breve e a lungo termine di tali esperienze. I risultati sono concordi nel mostrare alcune specifiche alterazioni neuroanatomiche: riduzione globale del volume cerebrale e della materia grigia; riduzione e atrofia dell'ippocampo, dell'insula, del giro cingolato e della corteccia prefrontale;<sup>88 89 90 91</sup> volumi aumentati e iperattivazione dell'amigdala.<sup>84 92 93 94</sup> Altri studi evidenziano un'alterazione della concentrazione di alcuni neurotrasmettitori nella maggior parte di queste strutture, in particolar modo la serotonina, la noradrenalina e la dopamina.<sup>95 85</sup> A queste alterazioni corrispondono alcuni deficit funzionali: a livello cognitivo, per il quale si evidenziano compromissione di memoria, attenzione, linguaggio;<sup>96</sup> a livello comportamentale, nel quale emergono problemi inerenti al comportamento finalizzato e socialmente accettato; a livello affettivo, nel quale ricorre l'insorgenza di disturbi d'ansia e dell'umore.<sup>97</sup>

Anche la psicologia, chiaramente, si è interessata allo stress e al suo impatto sull'individuo. Gli studi appartenenti alla letteratura psicologica si sono occupati prevalentemente di due filoni: da un lato delle reazioni psicologiche dell'individuo a eventi stressanti acuti, solitamente riprodotti in ambito

sperimentale (ad es. il Trier Social Stress Test-TSST),<sup>98</sup> dall'altro lato dell'impatto di eventi stressanti cronici sul benessere psicologico dell'individuo nel corso della vita. Molti di questi ultimi studi attestano la ricorrenza di eventi stressanti precoci nella vita di persone affette da disturbi psichiatrici e psicopatologici. Gli abusi infantili ricorrono spesso nell'anamnesi di tali soggetti; eppure, ad oggi, non sono conosciuti i meccanismi biologici alla base dell'interconnessione tra eventi di vita avversi subiti in età precoce e sviluppo di psicopatologie nel breve o nel lungo termine.

Complessivamente, la maggior parte degli studi scientifici finora effettuati ha studiato lo stress o in una prospettiva biologica o psicologica; difficilmente queste due prospettive si sono unite per studiare tale fenomeno e il suo impatto sull'organismo da un punto di vista globale. Alcuni studi più recenti si sono impegnati in quest'intento, producendo però risultati discordanti, da cui emergono divergenze tra le differenti misurazioni. La letteratura scientifica sull'argomento è quindi attualmente sprovvista di studi che integrino adeguatamente misurazioni morfologiche, biologiche e psicologiche e che adottino una prospettiva olistica necessaria a comprendere un fenomeno così complesso.

## **2. LA RISPOSTA FISIOLÓGICA ALLO STRESS: IL SISTEMA NERVOSO AUTONOMO E L'ASSE IPOTALAMO-IPOFISI-SURRENE**

Le due componenti fondamentali della risposta allo stress sono l'attivazione della componente simpatica del sistema nervoso autonomo (SNA) e quella dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene (HPA) (Figura 2).<sup>99</sup>

Un'adeguata funzione autonoma e della corteccia surrenalica sono pertanto essenziali per permettere all'organismo di sopravvivere di fronte a situazioni rischiose,<sup>5</sup> inevitabili in qualunque ambiente, più frequenti in ambienti o condizioni "a rischio". La *flight or fight response*, rappresentata dall'attivazione del SNA, è la risposta più immediata allo stress, e può essere considerata coincidente con la fase d'allarme della Sindrome Generale di Adattamento di Selye. Se la condizione di stress a cui si è sottoposti perdura, alla *flight or fight response* subentra rapidamente l'attivazione dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene,

che consiste in una risposta più duratura allo stress che può rappresentare un tentativo dell'organismo di adattarsi alla nuova condizione, come previsto dalla fase di resistenza della GAS.<sup>105 100</sup>

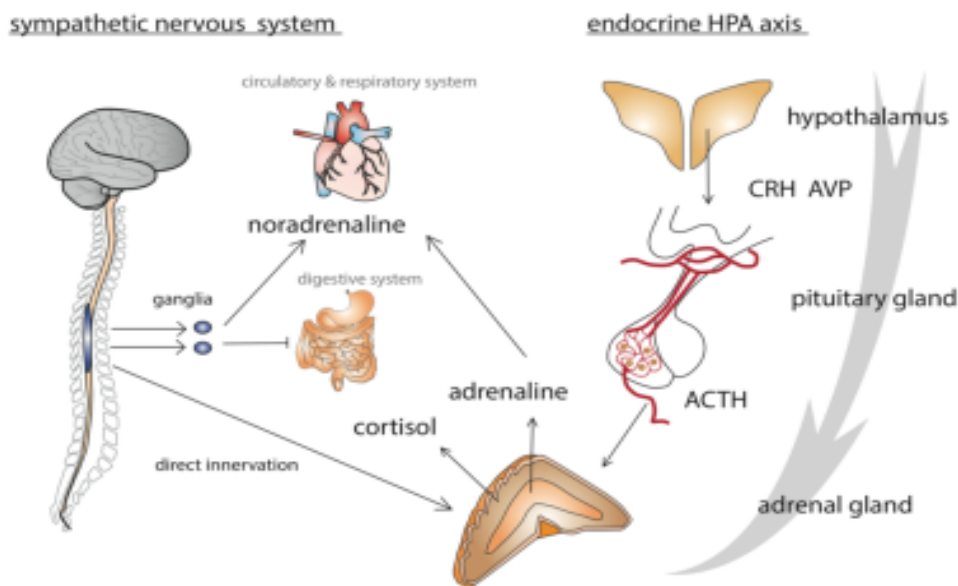
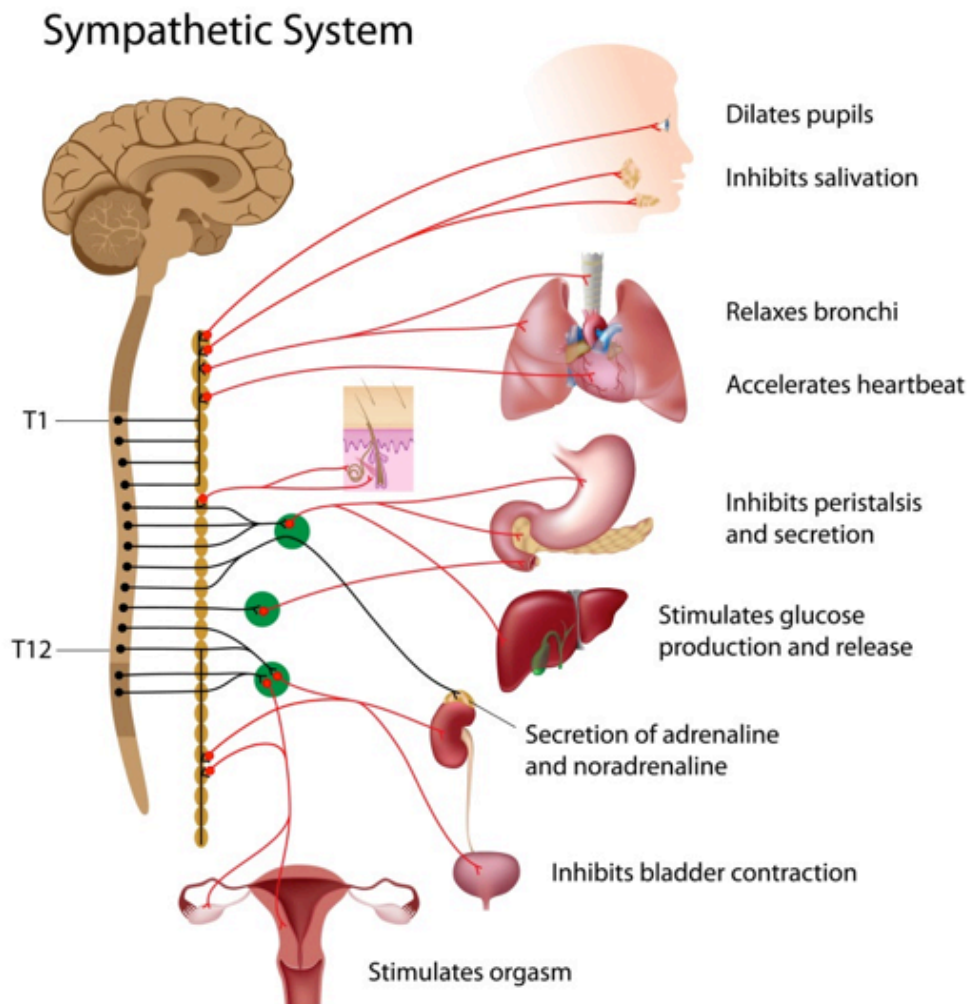


Figura 2 - Le due componenti della stress response: il sistema nervoso simpatico e l'asse HPA (modificata da Ulrich-Lai e Herman 2009)

## 2.1 La componente simpatica del Sistema Nervoso Autonomo (SNA)

Il Sistema Nervoso Simpatico è organizzato in neuroni pre- e post-gangliari. I corpi cellulari dei primi sono posti a livello del midollo spinale o negli omologhi nuclei motori dei nervi cranici. I loro assoni abbandonano il midollo spinale con le radici ventrali dei nervi spinali e, attraverso i rami comunicanti bianchi, raggiungono la catena dei gangli simpatici paravertebrali, dove si trovano i corpi cellulari dei neuroni post-gangliari. Gli assoni dei neuroni post-gangliari si portano dunque in periferia per distribuirsi agli effettori autonomici degli organi target. La sinapsi tra neuroni pre- e post-gangliari è di tipo acetilcolinergico, mentre i neuroni simpatici post-gangliari sono in parte colinergici e in parte noradrenergici. In particolare, quelli che innervano le ghiandole sudoripare e i vasi sanguigni dei muscoli scheletrici sono colinergici, mentre i restanti neuroni simpatici post-gangliari sono noradrenergici. (Figura 3)



**Figura 3 - Componente simpatica del sistema nervoso autonomo.**

La midollare del surrene è un'eccezione e, insieme alle fibre simpatiche che la innervano, costituisce il sistema simpato-adreno-midollare.<sup>101</sup> Essa è costituita da cellule considerabili dei neuroni simpatici post-gangliari che hanno perduto il loro assone e secernono direttamente nel circolo ematico adrenalina (per il 90%), noradrenalina (per il 10%) e dopamina (in minor quantità). Tali catecolamine sono contenute nelle cellule secernenti della midollare in apposite vescicole citoplasmatiche, la cui esocitosi è attivata dall'acetilcolina liberata dai neuroni pregangliari.<sup>102 103</sup>

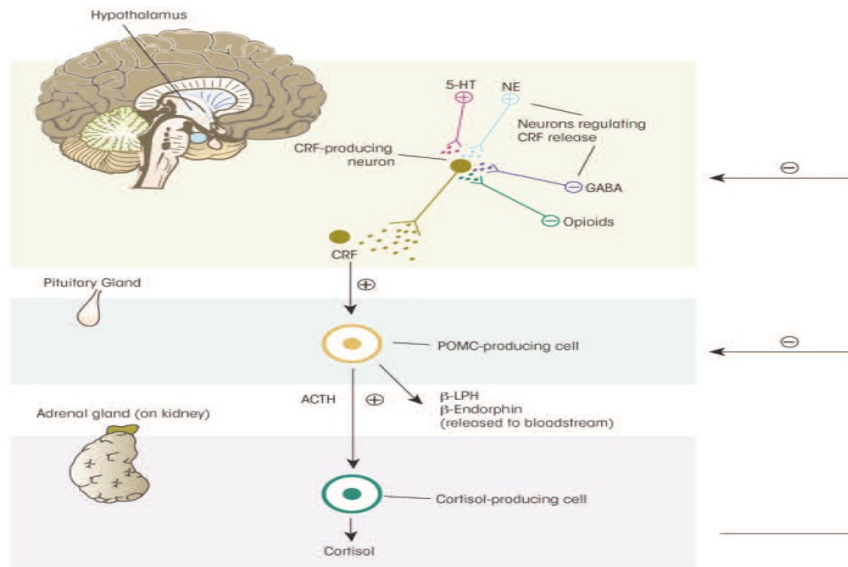
Di fronte a una situazione di pericolo improvvisa o a uno stress acuto fisico o psicologico, come ad esempio uno stato di ira o di paura, il Sistema Nervoso Centrale (SNC) risponde con l'attivazione dei centri ipotalamici e delle cellule noradrenergiche della porzione ventrocaudale del locus coeruleus appartenenti al

sistema catecolaminergico discendente, che, tramite la sostanza reticolare tronco-encefalica, inviano impulsi al midollo spinale, attivando massivamente i neuroni simpatici pregangliari.<sup>104 105</sup> L'attivazione massiva del sistema simpatico e del sistema simpato-adreno-midollare porta una scarica adrenergica, i cui effetti periferici sistemici sono mediati dall'attivazione dei recettori  $\alpha$  e  $\beta$  adrenergici negli organi target e hanno grande importanza per permettere all'individuo di affrontare la situazione di minaccia. Tali effetti nel loro insieme delineano la risposta allo stress acuto *flight or fight response*, descritta per la prima volta da Cannon.<sup>15 105</sup> A livello oculare, ad esempio, la noradrenalina inibisce l'accomodazione e dilata la pupilla, in modo che gli occhi siano maggiormente in grado di captare la luce. A livello cardio-circolatorio, in seguito alla scarica adrenergica, si osserva un aumento della pressione arteriosa, della forza di contrazione cardiaca, della sua eccitabilità e della sua frequenza. Per assicurare un'adeguata perfusione ematica dei muscoli e del fegato, si assiste ad una vasodilatazione di questi (tramite stimolazione dei recettori  $\beta_2$  adrenergici da parte dell'adrenalina), a fronte di una vasocostrizione cutanea, dei reni e dell'apparato digerente (tramite stimolazione dei recettori  $\alpha_1$  adrenergici da parte della noradrenalina). La vasocostrizione della cute consente anche un minore sanguinamento delle ferite. A livello ematico si registra un aumento della velocità di coagulazione, della concentrazione di glucosio (per aumentata glicogenolisi epatica e del muscolo scheletrico) e di acidi grassi liberi, con conseguente aumento di disponibilità di substrati energetici. Anche il sistema respiratorio partecipa alla risposta allo stress acuto, con broncodilatazione e aumento della frequenza respiratoria. Gli effetti dell'adrenalina compaiono anche a livello della sostanza reticolare del tronco encefalico, la cui soglia è abbassata, al fine di rinforzare lo stato di vigilanza.<sup>25 102 103 106 107</sup>

## **2.2 L'asse Ipotalamo-Ipofisi-Surrene (HPA)**

Tutti i tipi di stress (fisici, biochimici o psicologici...) provocano immediatamente un notevole aumento della secrezione di ormone adrenocorticotropo o corticotropina (Adrenocorticotropic Hormone - ACTH) da parte dell'adenoipofisi, a seguito dell'attivazione della secrezione dell'ormone di rilascio della

corticotropina (Corticotropin-Releasing Hormone - CRH) e dell'arginina-vasopressina (Arginine Vasopressin - AVP) da parte dell'ipotalamo, cui segue nel giro di pochi minuti un forte aumento della secrezione di cortisolo ad opera della corticale del surrene. Il CRH e l'AVP nello specifico sono prodotti dai neuroni parvocellulari ipotalamici, i cui corpi sono posti soprattutto nel nucleo paraventricolare dell'ipotalamo. Questi neuroni immagazzinano il CRH in vescicole secretorie localizzate nelle terminazioni sinaptiche nell'eminenza mediana dell'ipotalamo e possono rilasciare acutamente CRH senza necessità di doverlo sintetizzare *de novo*. In risposta ad uno stress il CRH viene secreto nei capillari del plesso primario del sistema portale ipotalamo-ipofisario a livello dell'eminenza mediana dell'ipotalamo e poi trasportato per via ematica all'ipofisi anteriore, dove stimola la secrezione di ACTH.<sup>102 103 108 109 112 113 111</sup> Il nucleo paraventricolare dell'ipotalamo, a sua volta, riceve molte connessioni dal sistema limbico e dalla porzione inferiore del tronco encefalico. Nella risposta ai vari tipi di stress, infatti, l'attivazione ipotalamica dell'asse HPA è controllata da strutture "più alte" del sistema nervoso centrale (il sistema limbico e la corteccia prefrontale), dal tronco e da sistemi neurotrasmettitoriali.<sup>102 103 105 109 110 111 112 113</sup> Alcuni di questi neurotrasmettitori hanno un effetto inibitorio sul nucleo ipotalamico paraventricolare (ad esempio l'acido  $\gamma$ -aminobutirrico [GABA] e gli oppioidi), mentre altri hanno effetti eccitatori (ad esempio la noradrenalina [NA], il glutammato [GLU] e la serotonina [5-HT]) (Figura 4) Quindi, il sistema nervoso centrale e il sistema endocrino sono strettamente interconnessi nella coordinazione della risposta glucocorticoide allo stress.<sup>109 114</sup>



**Figura 4 - I maggiori componenti della risposta allo stress mediata dall'asse HPA**

In uno stress fisico, in particolare, i segnali dolorifici prodotti dallo stimolo stressante ascendono al SNC veicolati attraverso il tronco encefalico e raggiungono l'eminenza mediana dell'ipotalamo. Qui il CRH è liberato nel sistema portale ipotalamico per stimolare la secrezione di ACTH. Anche lo stress psicologico può stimolare la produzione di ACTH.<sup>115</sup> In questo secondo processo svolge un importante ruolo il sistema limbico: in situazioni di stress psicologico si riscontra un'aumentata attività soprattutto della regione dell'amigdala e dell'ippocampo, che inviano segnali all'ipotalamo posteromediale.<sup>102</sup> Un esempio di stress biochimico è l'ipoglicemia: essa stimola la secrezione di CRH e ACTH, portando a un incremento dei livelli di cortisolo che tendono ad innalzare i valori di glucosio.<sup>111</sup>

L'attivazione dell'asse HPA è meno immediata della *fight-or-flight response*: in seguito all'evento stressante i livelli di ACTH richiedono circa 5 minuti per crescere e l'aumento della concentrazione di cortisolo ne richiede dai 5 ai 20.<sup>116</sup> Il cortisolo, s'ipotizza, aumenta la sopravvivenza a breve termine, in una situazione di stress, aumentando la gluconeogenesi, la lipolisi, la proteolisi, l'immunosoppressione e la reattività vasale verso le catecolamine.<sup>105</sup> Esso, causando una rapida mobilizzazione di aminoacidi e grassi dalle loro riserve, li rende disponibili sia per fini energetici che per la sintesi di altri composti primari necessari ai diversi tessuti in una situazione critica per l'organismo.<sup>102 103 109 111</sup> Se



lo stress è considerabile come uno stimolo che distrugge il delicato equilibrio interno dell'organismo, la risposta allo stress si compone di processi auto-regolati ed allostatici, volti a ripristinare la condizione fisiologica iniziale.<sup>109</sup> Tuttavia, le risposte ad uno stress cronico o ripetuto possono portare al sovraccarico e al deterioramento dei sistemi fisiologici, producendo gravi conseguenze per la salute dell'organismo coinvolto.<sup>105</sup>

### **2.3 La risposta neuroendocrina allo stress: il cortisolo**

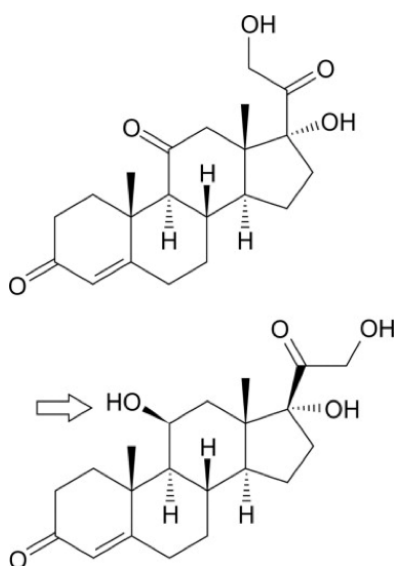
Andremo ora a trattare in dettaglio l'ormone principalmente coinvolto nella risposta fisiologica dell'organismo allo stress. Dopo qualche cenno storico, ne approfondiremo gli aspetti fisiologici, con particolare attenzione alla biosintesi, alle funzioni, al metabolismo e al caratteristico ritmo circadiano.

#### ***2.3.1 Cenni storici: la scoperta del Composto F***

Nel 1930, presso i laboratori della Mayo Clinic di Rochester in Minnesota, il Dottor Edward Kendall, un biochimico, isolò sei ormoni dalle ghiandole surrenali bovine e li nominò progressivamente con una lettera dell'alfabeto (dal composto A al composto F), nell'ordine in cui erano stati isolati. I composti A, B, E ed F mostravano un'attività fisiologica. Questa scoperta s'intrecciò con l'attività clinica svolta in quegli anni presso lo stesso Centro, nel reparto di reumatologia, dal Dottor Philip Hench. Egli, trattando pazienti con artrite reumatoide, si accorse che i loro sintomi miglioravano misteriosamente in occasione di eventi medici stressanti come un episodio acuto di ittero, l'immediato post operatorio o il parto; egli ipotizzò che determinati eventi fossero in grado di indurre il rilascio da parte dell'organismo di una sostanza sconosciuta, che chiamò "sostanza X", con azione anti-reumatica. Nel 1941 s'intensificò il coinvolgimento americano nella Seconda guerra mondiale e si sparse la voce che gli scienziati tedeschi avessero prodotto degli estratti di steroidi corticosurrenali che permettevano ai piloti della Luftwaffe di volare ad alte altitudini senza diventare ipossici. Questa fu la ragione per cui l'attività di ricerca relativa ai composti isolati dalla corticale del surrene venne generosamente finanziata e incentivata. Gli studi iniziali si concentrarono

sul composto E (poi noto come cortisone) per via della sua semplicità strutturale. Nel 1948, dopo che grazie al lavoro del chimico Lewis Sarett si riuscì a rendere disponibili dosi di composto E sufficienti per sperimentazioni cliniche sull'uomo,<sup>117</sup> Hench, in collaborazione con Kendall, iniziò un trial con il composto E. Iniettando tale ormone nei propri pazienti con artrite reumatoide, ottenne impressionanti miglioramenti della sintomatologia.

Nel 1949 Hench chiamò il composto E "cortisone" per evitare che fosse confuso con la vitamina E.<sup>118</sup> Queste scoperte valsero il premio Nobel per la medicina a Hench e Kendall nel 1950; negli anni successivi essi proseguirono con ulteriori sperimentazioni cliniche per indagare le azioni nell'organismo dei sei composti isolati da Kendall.<sup>119</sup> Nel 1950 Hench ebbe un paziente con una tendinite alla spalla e si decise a sperimentare una variante del composto E, ovvero il composto F (idrocortisone o cortisolo), anch'esso estratto dalla ghiandola surrenale bovina. Tale composto aveva una struttura chimica molto simile a quella del composto E, da cui si differenziava solo per la sostituzione al carbonio 11 di un doppio legame con l'ossigeno e con un radicale ossidrilico (Figura 5).<sup>121</sup> Il composto F sembrava essere più solubile del composto E e poteva quindi essere iniettato in dosi minori nelle articolazioni dei pazienti.



**Figura 5 - Molecola del cortisone (composto E) in alto e del cortisolo (composto F) in basso**

Hench iniziò dunque a studiarne l'effetto in soggetti con tendiniti calcifiche e periartriti della spalla. L'utilizzo clinico del composto F si espanse rapidamente e nel 1953 Howard ne sperimentò l'utilizzo nelle patologie chirurgiche e non chirurgiche della mano e del polso.<sup>120</sup> In breve tempo, grazie ai progressi della scienza e l'incremento delle ricerche in tale ambito, furono resi disponibili diversi derivati sintetici del cortisolo come il desametasone o il betametasone. La scoperta e l'applicazione clinica del cortisone (Composto E) e del cortisolo (Composto F) rappresentano uno splendido esempio di cooperazione tra la medicina, le scienze di base, e l'industria per migliorare le condizioni cliniche dei pazienti. Hench e Kendall hanno dimostrato che "la fortuna favorisce una mente preparata"<sup>121</sup>

### ***2.3.2 Classificazione degli ormoni corticosteroidi***

Il cortisolo è il principale ormone corticosteroide ad azione glucocorticoide prodotto dalle ghiandole surrenali; si tratta di ghiandole endocrine, pari, situate sopra l'apice di ciascun rene, strutturate in due componenti: la midollare, correlata funzionalmente con il sistema nervoso simpatico e secernente adrenalina e noradrenalina; la corticale, correlata funzionalmente con l'ipofisi attraverso l'asse ipotalamo-ipofisi-surrene, e secernente gli ormoni corticosteroidi.<sup>102</sup>

Gli ormoni corticosteroidi sono classificabili nei seguenti tre principali gruppi:

- **Mineralcorticoidi**, importanti per la regolazione della funzione renale e cardiovascolare.<sup>122</sup> Il principale ormone ad azione mineralcorticoide è l'aldosterone, che ha la funzione di mantenere in equilibrio il bilancio idrico ed elettrolitico nei vertebrati. Esso, in particolare, previene l'ipotensione arteriosa cronica aumentando il riassorbimento di sodio e acqua, e regola l'omeostasi del potassio, aspetto fondamentale per l'elettrofisiologia cardiaca.<sup>122</sup>
- **Glucocorticoidi**: regolano molte funzioni fisiologiche essenziali per la vita. Essi hanno un ruolo determinante nel mantenimento dell'omeostasi dell'organismo in condizione basale e nel modulare la risposta allo stress.<sup>123</sup>  
<sup>124 125 126 127 128</sup> Hanno importanti effetti sul metabolismo di proteine e grassi, e sono in grado di determinare un innalzamento della concentrazione ematica

di glucosio.<sup>102 129</sup> I glucocorticoidi sono importanti anche nella regolazione di processi biologici critici come la crescita, la riproduzione, le reazioni immunitarie e infiammatorie, e hanno infine effetti sul sistema nervoso centrale e sul sistema cardiovascolare.<sup>123 125 130</sup> Essi rappresentano inoltre uno dei mezzi terapeutici di più largo utilizzo contro le patologie infiammatorie autoimmuni e linfoproliferative.<sup>123 125</sup> Il principale ormone glucocorticoide è il cortisolo (idrocortisone), il quale è molto potente ed è responsabile di circa il 95% di tutta l'attività glucocorticoide del surrene. Esso possiede inoltre una lieve attività mineralcorticoide. Un altro ormone glucocorticoide prodotto dalla corteccia del surrene è il corticosterone; esso però è molto meno potente del cortisolo, ed è responsabile solo per il 4% dell'attività glucocorticoide totale.<sup>102 131</sup>

- **Ormoni sessuali** (soprattutto androgeni), prodotti in piccole quantità dalla corticale del surrene. Essi posseggono gli stessi effetti del testosterone, il principale ormone sessuale maschile, partecipando allo sviluppo degli organi genitali e dei caratteri sessuali secondari nel maschio, alla regolazione di funzioni metaboliche e sessuali, alla regolazione del metabolismo dell'osso diminuendo il rischio di osteoporosi, e al miglioramento delle facoltà cognitive, contenendo il rischio di sviluppare depressione o demenza.<sup>102</sup>

### ***2.3.3 Biosintesi degli ormoni corticosteroidi***

La porzione corticale della ghiandola surrenale umana adulta può essere divisa in tre strati funzionalmente distinti: la zona glomerulosa, la zona fascicolata e la zona reticolare; ciascuna di esse è caratterizzata da un proprio indipendente meccanismo di regolazione<sup>132</sup> e da una propria caratteristica funzione secretoria, in virtù della diversa distribuzione degli enzimi necessari per la catalizzazione delle varie vie biosintetiche che portano alla formazione dei diversi ormoni corticosteroidi (Figura 6).<sup>133</sup>

Nella zona glomerulosa vengono prodotti i mineralcorticoidi.<sup>129</sup> La produzione di aldosterone è sotto il controllo dell'angiotensina II circolante e dei livelli ematici di potassio oltre che dell'ormone adrenocorticotropo. (Figura 6)<sup>134</sup> I complessi meccanismi che controllano questo processo e le interazioni tra agenti che

stimolano o inibiscono la produzione di aldosterone non sono stati ancora completamente compresi. La sintesi di aldosterone è caratterizzata da un fattore limitante che è rappresentato dall'espressione dell'aldosterone sintasi (CYP11B2),<sup>131</sup> un enzima presente esclusivamente nella zona glomerulosa, unica in grado di produrre l'aldosterone.<sup>129</sup>

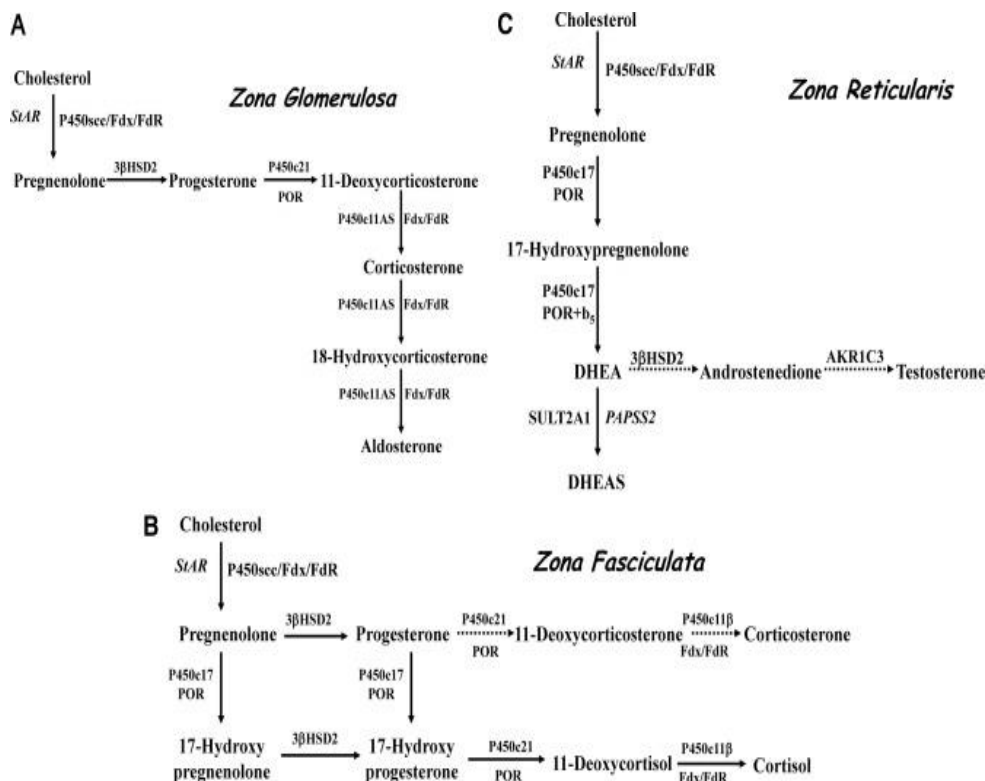


Figura 6 - Le principali vie biosintetiche degli steroidi surrenalici, differenziate nelle tre diverse zone della corticale del surrene

La zona fascicolata produce i glucocorticoidi, che comprendono cortisolo e corticosterone<sup>103</sup>, e piccole quantità di androgeni ed estrogeni surrenalici.<sup>102 131</sup> L'attività delle cellule di questo strato è controllata soprattutto dall'asse ipotalamo-ipofisi-surrene mediante l'ormone adrenocorticotropo, che, oltre a stimolare la sintesi di glucocorticoidi, fa aumentare anche la sensibilità del corticosurrene a successive dosi di ACTH.<sup>102 103</sup> Nella zona reticolare sono invece principalmente prodotti gli ormoni androgeni surrenalici, che includono soprattutto deidroepiandrosterone (DHEA) e androstenedione; essi possiedono solo una debole attività da ormoni sessuali, ma fungono da precursori per la

sintesi di estrogeni e androgeni attivi come il testosterone.<sup>129 132</sup> Nella zona reticolata vengono inoltre prodotte piccole quantità di estrogeni e di glucocorticoidi. I meccanismi che regolano la produzione degli androgeni surrenalici non sono conosciuti in maniera approfondita. Sicuramente l'ACTH svolge un ruolo all'interno di questi meccanismi di regolazione.<sup>102</sup> Le cellule della zona glomerulosa funzionano in modo del tutto indipendente dagli strati cellulari più profondi. Infatti, la regolazione della secrezione dell'aldosterone è completamente indipendente dalla regolazione della secrezione di cortisolo e degli androgeni surrenalici.

Le tappe della sintesi degli steroidi della corteccia del surrene, avvengono principalmente nei mitocondri e nel reticolo endoplasmatico delle cellule corticali;<sup>102</sup> ognuna è catalizzata da un sistema enzimatico specifico, e ciascuna delle diverse zone della corticale del surrene è caratterizzata da un proprio specifico assetto enzimatico. Si può notare come la conversione del colesterolo a pregnenolone sia comune in tutte e tre le zone.<sup>131 110</sup> Fattori come l'angiotensina II, che specificatamente aumentano la secrezione di aldosterone, provocano ipertrofia della zona glomerulosa, mentre non influenzano le zone fascicolata e reticolare. L'ACTH, al contrario, che agisce legandosi al suo specifico recettore MC2R (melanocortine receptor 2) accoppiato con una G-protein, induce un aumento della secrezione di cortisolo e di androgeni surrenalici e determina un'ipertrofia della zona fascicolata e della zona reticolare, mentre non provoca ipertrofia della zona glomerulosa. L'ACTH è inoltre necessario per la secrezione dell'aldosterone (effetto trofico), nonostante non sia in grado di influenzarne la velocità di secrezione.<sup>102 129 132</sup> Gli ormoni corticosurrenalici appartengono alla famiglia degli ormoni steroidei, la cui sintesi avviene a partire dalla molecola del colesterolo.<sup>103 133 135 136</sup> Sebbene le cellule della corticale del surrene possano sintetizzare *ex novo* autonomamente piccole quantità di colesterolo dall'acetato<sup>136</sup>, quasi l'80% del colesterolo usato per la sintesi degli steroidi viene fornito dalle LDL (Low-Density Lipoprotein) e dalle HDL (High-Density Lipoprotein) plasmatiche.<sup>102 103 133 136</sup> Le lipoproteine sono ricche di colesterolo, diffondono dal plasma al liquido interstiziale, si legano a specifici recettori contenuti in infossature sulla membrana delle cellule surrenaliche. Queste regioni, attraverso

un processo di endocitosi, si invaginano, formando delle vescicole che poi si fondono con i lisosomi, dove le lipoproteine sono degradate per proteolisi, liberando esteri di colesterolo, che sono poi idrolizzati tramite la Lipasi Acida Lisosomiale (LAL) a colesterolo libero, utilizzabile per la sintesi degli steroidi surrenalici.<sup>102 136</sup> L'ACTH, stimolando l'azione della steroidogenic Acute Regulatory protein (stAR), aumenta il flusso di colesterolo libero dall'esterno verso l'interno dei mitocondri.<sup>136</sup> Una volta raggiunti i mitocondri, il colesterolo viene attaccato dalla desmolasi del colesterolo, che lo trasforma in pregnenolone per iniziare la steroidogenesi.<sup>102 136</sup> Questo è uno dei passaggi limitanti la formazione degli steroidi surrenalici. Tanto l'ACTH, che stimola la produzione di cortisolo, quanto l'angiotensina II, che promuove la sintesi dell'aldosterone, aumentano la conversione del colesterolo in pregnenolone.<sup>102</sup>

Il trasferimento del colesterolo all'interno delle cellule produttrici di ormoni steroidei è in genere un passaggio limitante la velocità della steroidogenesi. Esso viene regolato da un meccanismo a *feedback*, per esempio l'ACTH o le gonadotropine, che stimolano la sintesi degli steroidi nel surrene, fanno aumentare il numero di recettori per le lipoproteine, così come promuovono l'attività degli enzimi che liberano colesterolo da queste lipoproteine e il trasporto del colesterolo libero citoplasmatico all'interno dei mitocondri.<sup>102</sup> Quando invece la concentrazione di colesterolo intracellulare cresce, viene ridotta la sintesi di recettori per le lipoproteine e degli enzimi necessari a liberare il colesterolo da esse, riducendo in questo modo l'*uptake* di colesterolo.<sup>136</sup>

#### **2.3.4 Clearance del cortisolo**

Fisiologicamente la corticale del surrene secreta circa 5-15mg di cortisolo ogni giorno. I livelli plasmatici di cortisolo totale (frazione libera più frazione legata a proteine) sono circa di 500 nMol/L nel picco del mattino e 100 nMol/L durante la sera. Una volta raggiunto il torrente ematico, il cortisolo libero totale è in equilibrio dinamico con la quota di ormone legata alle proteine plasmatiche, che sono principalmente l' $\alpha$ -globulina e la Corticosteroid-Binding Globulin (CBG) e l'albumina. La CBG ha un'affinità per il cortisolo molto maggiore rispetto a quella dell'albumina. Normalmente la quota di cortisolo libera è circa il 6% del

totale, mentre la quota legata a proteine rappresenta il 90-95% del totale. La quota biologicamente attiva è solo quella in forma libera, mentre la quota legata funge da riserva circolante dell'ormone a disposizione dei tessuti. Il fatto che il cortisolo in circolo sia quasi totalmente legato alle proteine plasmatiche ne rallenta l'eliminazione, garantendo al cortisolo un'emivita piuttosto lunga (90 minuti circa).<sup>102 103 137 138</sup>

Le sedi principali di clearance (Figura 7)<sup>167</sup> del cortisolo sono fegato e rene. La quota circolante di cortisolo non legata a proteine plasmatiche è escreta come cortisolo libero in urine, saliva o bile. La quota rimanente è metabolizzata attraverso molte diverse vie enzimatiche.<sup>102 103</sup> A livello epatico la A-ring riduttasi (5 $\alpha$ - e 5 $\beta$ -riduttasi), la 3 $\alpha$ -idrossi-steroidi-deidrogenasi e le 20 $\alpha$  - 20 $\beta$  - idrossi-steroidi-deidrogenasi convertono il cortisolo in cataboliti inattivi, che vengono resi idrosolubili attraverso la coniugazione con acido glucuronico o solfati, per poi essere escreti tramite urina (75%) o bile (25%).<sup>102 103</sup> A livello renale una minima parte di cortisolo (ovvero la quota libera dal legame con proteine di trasporto, e i cataboliti del cortisolo variamente coniugati) è direttamente filtrata dai glomeruli ed escreta come cortisolo libero urinario, mentre la restante quota è inattivata a cortisone dalla 11 $\beta$ -idrossi-steroidi-deidrogenasi di tipo 2 del nefrone distale. Questa rimozione di cortisolo è controbilanciata dalla rigenerazione di cortisolo, a partire dal cortisone, ad opera della 11 $\beta$ -idrossi-steroidi-deidrogenasi di tipo 1 a livello principalmente epatico e del tessuto adiposo.<sup>102 128 111 139 140 141 142 143</sup> Le 11 $\beta$ -idrossi-steroidi-deidrogenasi (11 $\beta$ -HSDs),<sup>144</sup> hanno una grande influenza sulla risposta dei tessuti periferici ai glucocorticoidi. Di questo gruppo di enzimi, che catalizza l'inter-conversione tra cortisolo e cortisone, esistono due isoforme.<sup>128 143 145 146 147 148 149 150</sup> La 11 $\beta$ -idrossi-steroidi-deidrogenasi tipo 2 ha altissima affinità per il cortisolo e lo inattiva a cortisone.<sup>103 139 143</sup> Nell'adulto essa è espressa principalmente a livello dei tessuti bersaglio dell'aldosterone, ovvero principalmente nel nefrone distale, nelle ghiandole sudoripare, nelle ghiandole lacrimali, nella corticale del surrene e nella mucosa del colon.<sup>128 151 152</sup> La 11 $\beta$ -HSD2 è inoltre espressa a livello di altri distretti come ad esempio le cellule epiteliali polmonari.<sup>128 153 154</sup>



La selettività all'aldosterone nei tessuti target dei mineralcorticoidi, è garantita proprio dall'azione di questo enzima. Aldosterone e cortisolo, infatti, hanno analoga affinità per il recettore citoplasmatico dei mineralcorticoidi, ma il cortisolo è presente nell'organismo in concentrazioni molto superiori a quelle dell'aldosterone. La sua attività mineralcorticoide è tuttavia inibita dalla presenza nei tessuti target dei mineralcorticoidi della 11  $\beta$ -HSD di tipo 2 che, inattivando in maniera reversibile il cortisolo a cortisone, impedisce al cortisolo di legarsi al recettore per i mineralcorticoidi, permettendo così all'aldosterone di legarsi ad esso.<sup>143 145 146 154</sup> La 11  $\beta$ -HSD di tipo 1 ha una più bassa affinità per il cortisolo. Questo enzima è scarsamente rappresentato a livello renale,<sup>128 155</sup> mentre risulta molto espresso a livello di tessuti target dell'azione del cortisolo come fegato, tessuto adiposo, muscolo scheletrico, muscolo liscio, corticale del surrene e cellule del sistema immunitario.<sup>146 156 157 158 159 160</sup> Esso inoltre è largamente distribuito a livello del sistema nervoso centrale, e in particolare a livello di neuroni e glia di corteccia, ippocampo, cervelletto e ipofisi anteriore, mentre è scarsamente rappresentato a livello del nucleo paraventricolare dell'ipotalamo.<sup>161</sup> La 11  $\beta$ -HSD di tipo 1 sembra avere principalmente un'azione di riattivazione del cortisone a cortisolo (reazione reversibile), favorendo così l'aumento dei livelli tissutali di cortisolo attivo e l'azione dei glucocorticoidi nei loro tessuti target.<sup>128 103 139 143 145 146 159 161 162 163 164 165</sup> La A-ring-reduttasi (5 $\alpha$ - e 5 $\beta$ -reduttasi) catalizza la riduzione irreversibile della molecola di cortisolo a 5 $\alpha$  o 5 $\beta$  - diidrocortisolo.<sup>139 143</sup> I diidro-metaboliti sono poi soggetti a un rapido metabolismo a livello epatico, ad opera della 3 $\alpha$ -idrossi-steroidi deidrogenasi per ottenere 5 $\alpha$  o 5 $\beta$  -tetraidrocortisolo.<sup>128 146 166</sup> La 3 $\alpha$ -idrossi-steroidi deidrogenasi metabolizza inoltre il cortisone in 5 $\beta$ -tetraidrocortisone.<sup>146</sup> 5 $\alpha$ -tetraidrocortisolo e 5 $\beta$ -tetraidrocortisone vengono successivamente ulteriormente ridotti ad opera delle 20 $\alpha$  e 20 $\beta$  HSDs in  $\alpha$ -cortolo,  $\beta$ -cortolo,  $\alpha$ -cortolone,  $\beta$ -cortolone. Questi cataboliti sono infine coniugati con solfati e acido glucuronico, per poi essere secreti via urinaria e biliare.<sup>128 103 167</sup>

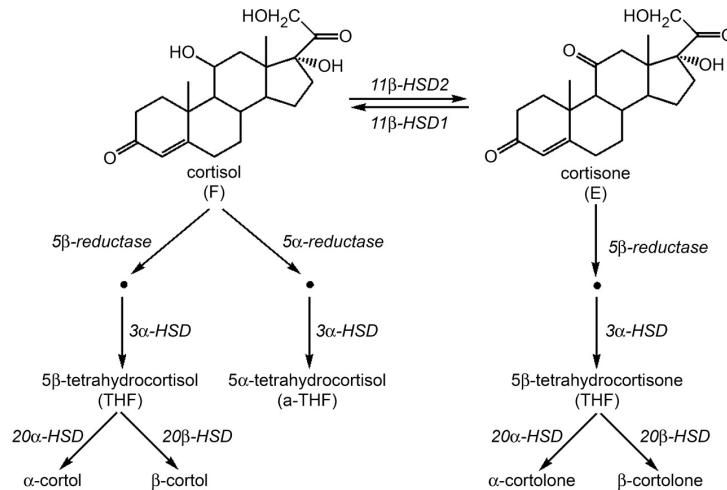


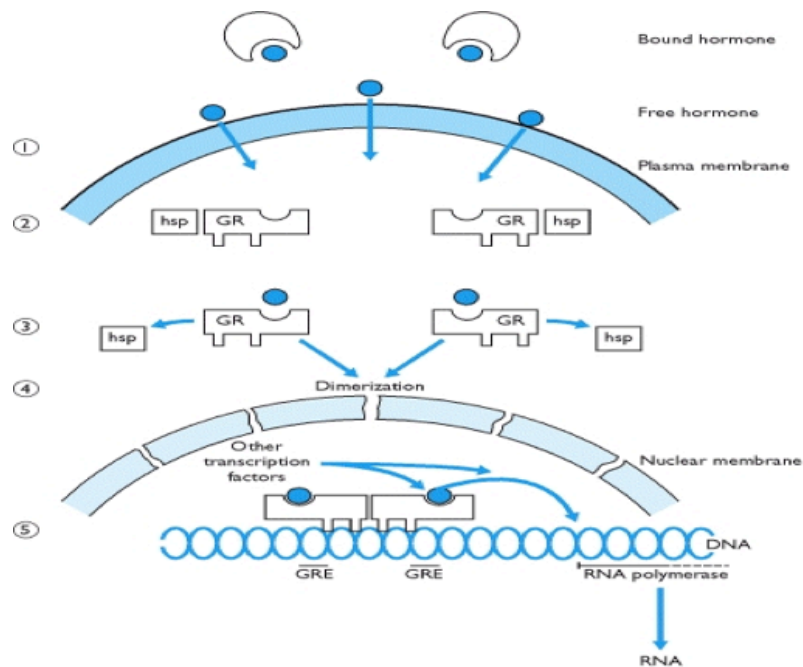
Figura 7 - Le tappe metaboliche della clearance del cortisolo

Il metabolismo periferico del cortisolo non è solamente un meccanismo di clearance, ma è fondamentale nel determinare la risposta locale all'ormone stesso. Attraverso la conversione reversibile con il cortisone è infatti possibile regolare la concentrazione intracellulare di cortisolo nei tessuti periferici. Questo peculiare meccanismo, assieme alla regolazione con *feedback* inibitorio della produzione del cortisolo tramite l'asse ipotalamo-ipofisi-surrene, e alla modulazione dell'espressione dei recettori per i glucocorticoidi, contribuisce a determinare il complesso sistema di regolazione dell'azione glucocorticoide in maniera tessuto specifica.<sup>102 128</sup>

### 2.3.5 Azioni del cortisolo

I glucocorticoidi svolgono le loro azioni a livello nucleare, attraverso meccanismi genomici che includono sia l'attivazione trascrizionale che la repressione dell'espressione genica.<sup>168</sup> A livello cellulare il cortisolo, come gli altri ormoni steroidei, si lega con i propri recettori citoplasmatici intracellulari negli organi bersaglio. Essendo fortemente liposolubile diffonde facilmente attraverso le membrane e, una volta dentro la cellula, esso si lega con i relativi recettori nel citoplasma (Glucocorticoid Receptor - GR – che è un fattore di trascrizione attivato da ligando). Il legame del recettore con l'ormone ne determina l'attivazione e un cambio di conformazione. Il complesso ormone-recettore migra

così nel nucleo a interagire, grazie al contributo di appositi fattori di trascrizione, con sequenze nucleotidiche di DNA specifiche che si trovano sul promotore del gene di cui regola l'espressione (Glucocorticoid Responsive Elements - GRE), inducendo o sopprimendo la trascrizione dei geni bersaglio e quindi la sintesi di specifiche proteine. Gli effetti del cortisolo non sono pertanto immediati, ma richiedono ore-giorni per la completa manifestazione.<sup>102 103 111 168 169</sup> (Figura 8)



**Figura 8 - Meccanismo di interazione del cortisolo col proprio recettore citoplasmatico**

Il cortisolo svolge molteplici funzioni nell'organismo ed è essenziale per la sopravvivenza e la risposta allo stress. Esso in particolare:

- induce un aumento dei livelli di glucosio ematici stimolando la gluconeogenesi epatica e contrastando l'azione dell'insulina. Il cortisolo infatti induce insulino resistenza periferica riducendo la traslocazione insulino-indotta del trasportatore del glucosio di tipo 4 a livello dei tessuti insulino sensibili come il muscolo scheletrico e il tessuto adiposo.<sup>170</sup> A livello del fegato, invece, il cortisolo stimola l'ingresso di aminoacidi negli epatociti, e stimola la sintesi di enzimi necessari per la gluconeogenesi. L'aumento dei livelli di glucosio plasmatico assicura il suo rifornimento a organi vitali come cuore e cervello;<sup>102 103 109 111</sup>

- a livello muscolare provoca catabolismo proteico, riduzione della sintesi proteica e riduzione dell'uptake di aminoacidi nelle cellule, con conseguente mobilizzazione degli aminoacidi nel siero, affinché questi siano a disposizione per la gluconeogenesi epatica;<sup>102 103 111</sup>
- a livello del tessuto adiposo periferico provoca mobilizzazione degli acidi grassi tramite incremento della lipolisi. Con conseguente aumento della loro concentrazione plasmatica e del loro uso a fini energetici. In caso di eccessiva secrezione di cortisolo si presenta così un particolare tipo di obesità caratterizzata da un'eccessiva deposizione di grasso nelle regioni centrali (viscerali, addominali, del torace e del capo) che conferisce alla parete postero-superiore del tronco il tipico aspetto a “gibbo di bufalo” e al viso la caratteristica “facies lunare”, mentre il grasso periferico è ridotto;<sup>102 128 103 111</sup>
- ha un effetto antinfiammatorio, in quanto riduce la secrezione di citochine e istamina (effetto anti-allergico), stabilizza le membrane dei lisosomi, riduce la proliferazione dei linfociti inducendo linfopenia e riduce il numero di eosinofili circolanti aumentandone il sequestro da parte di milza e polmoni;<sup>102 109 103</sup>
- stimola, a livello vascolare, la risposta della muscolatura liscia ad adrenalina e noradrenalina, permettendo un'adeguata regolazione della pressione sanguigna;<sup>103</sup>
- influisce sull'apprendimento e sulla memoria: sia il cortisolo che l'esposizione allo stress possono, infatti, determinare un deficit di apprendimento e di memoria di rievocazione,<sup>171</sup> mentre aumentano la memoria di brevi eventi emotivamente coinvolgenti e si ipotizza che ciò serva a permettere a un individuo di sapere cosa evitare in futuro.<sup>109</sup> In situazioni di insufficienza surrenalica, inoltre, si assiste alla comparsa di onde più lente del ritmo  $\alpha$  normale all'EEG, e a cambiamenti di personalità.<sup>103</sup>

Tutte le funzioni svolte dal cortisolo (Figura 9) sono coinvolte quando si ha un'attivazione dell'asse HPA in risposta allo stress.<sup>172</sup> Le modifiche al

metabolismo di grassi e proteine avvengono principalmente per supportare le richieste metaboliche del sistema nervoso centrale durante lo stress.<sup>111 173</sup>

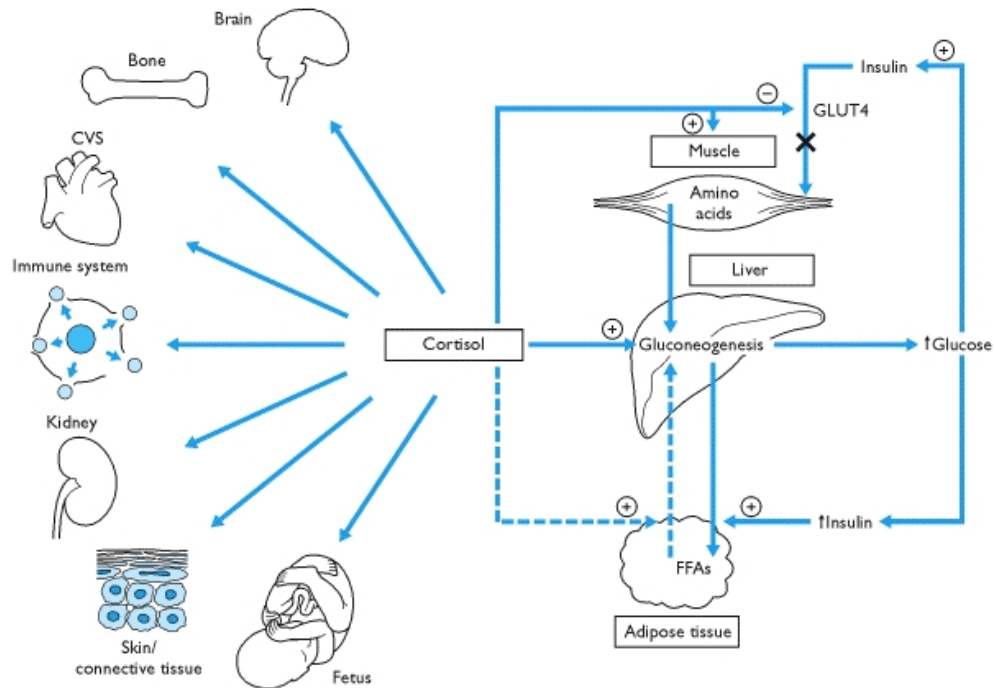


Figura 9 – Funzioni del cortisolo

### 2.3.6 Regolazione della secrezione del cortisolo

La regolazione della secrezione del cortisolo è controllata dall'asse HPA, caratterizzato dalla presenza dell'ormone adrenocorticotropo (ACTH), secreto dall'ipofisi anteriore sotto stimolo ipotalamico. Come per altri ormoni adenoipofisari infatti, anche per l'ACTH l'ipotalamo secreta un ormone liberatore che ne induce la secrezione: il *corticotropine releasing hormone* (CRH). I neuroni parvocellulari dell'ipotalamo liberano anche arginina-vasopressina (AVP), la quale è anch'essa un potente secretagogo nei confronti dell'ACTH e probabilmente ha un ruolo importante nello stimolare la secrezione di ACTH nelle situazioni di stress.<sup>110 111</sup>

L'ACTH stimola la produzione di cortisolo legandosi al suo specifico recettore MC2R (MelanoCortine Receptor 2), accoppiato con una G-protein e posto sulla membrana delle cellule della corteccia surrenale.<sup>103</sup> Il suo legame provoca

L'attivazione di un'adenilato ciclasi, con conseguente aumento di AMPc (AdenosilMonofosfato ciclico) intracellulare. Si ha di conseguenza l'attivazione di una cAMP-dependent protein kinase (PKA) che, fosforilando le sue molecole target, attiva gli enzimi intracellulari che danno origine alla formazione degli ormoni corticosurrenali. La PKA, in particolare, stimola la conversione iniziale del colesterolo in pregnenolone, tappa che rappresenta un passaggio limitante la velocità di formazione per tutti gli ormoni corticosurrenali.<sup>102 103 135 136 111 174</sup> L'ACTH quindi stimola acutamente la sintesi di cortisolo, e cronicamente incrementa il contenuto di enzimi surrenali implicati nella steroidogenesi. Una stimolazione cronica delle ghiandole surrenali da parte dell'ACTH, come può avvenire in una situazione di eccesso cronico di ACTH a seguito di uno stress cronico, può provocare ipertrofia delle ghiandole surrenali.<sup>111</sup>

Nella regolazione della secrezione del cortisolo esiste un *feedback* negativo che si esercita a due livelli. Il cortisolo, infatti, contrasta la propria stessa secrezione agendo a livello dell'ipotalamo (facendo diminuire la secrezione di CRH) e agendo a livello dell'adenoipofisi (facendo ridurre la produzione di ACTH).<sup>105</sup> Il *feedback* serve a regolare la concentrazione di cortisolo libero plasmatico (ovvero la forma biologicamente attiva), riducendola ogni volta che diventa troppo alta e cercando di mantenere l'omeostasi. Gli stimoli indotti dallo stress sono prevalenti e, se necessario, possono interrompere il feedback inibitorio innalzando i livelli di cortisolo.<sup>102 103 111 175</sup> Quest'ultimo è in grado di legarsi sia al recettore per i mineralcorticoidi che al recettore per i glucocorticoidi ed entrambi questi recettori partecipano al meccanismo di *feedback* negativo: il cortisolo ha infatti una maggiore affinità di legame per i recettori mineralcorticoidi rispetto ai recettori per i glucocorticoidi. A causa di questa differenza di affinità di legame, i recettori per i mineralcorticoidi aiutano a mantenere relativamente bassi i livelli di cortisolo circolanti nel sangue durante il normale ritmo circadiano. Solo quando la concentrazione di cortisolo è elevata (ad esempio, durante una situazione stressante), esso si lega ai recettori per i glucocorticoidi con minor affinità; l'attivazione risultante di tali recettori termina la risposta allo stress attivando il meccanismo di *feedback* negativo.<sup>109</sup>

### 2.3.7 Il ritmo circadiano del cortisolo

In condizioni basali, la secrezione di cortisolo è caratterizzata da un ritmo circadiano (Figura 10 ).<sup>103 175 176 177</sup> La secrezione di CRH, di ACTH e di cortisolo, sono tutte più elevate nelle prime ore del mattino e più basse nel tardo pomeriggio e alla sera. La concentrazione plasmatica di cortisolo, nello specifico, registra un picco mattutino, con valori che si aggirano intorno alle 550 nMol/L; questa è la Cortisol Awakening Response – CAR, ovvero un incremento del 38%-75% dei valori di cortisolo, che si registra nei 30-40 minuti successivi al risveglio e può essere osservata nel 75% dei soggetti sani.<sup>178</sup> Dopo il picco mattutino i livelli di cortisolo calano progressivamente fino ad un secondo minor picco, che avviene in corrispondenza del pranzo. Durante poi il pomeriggio e nelle ore serali i livelli di cortisolo continuano a calare senza registrare ulteriori picchi. Il nadir viene raggiunto circa a mezzanotte, nella prima metà del sonno (periodo quiescente), quando i livelli plasmatici di cortisolo scendono sotto le 50 nMol/L. Il cortisolo plasmatico ricomincia poi progressivamente a ricrescere attorno alle 2:00 h – 4:00 h, nella seconda metà del sonno, fino al picco del mattino successivo.<sup>116</sup>

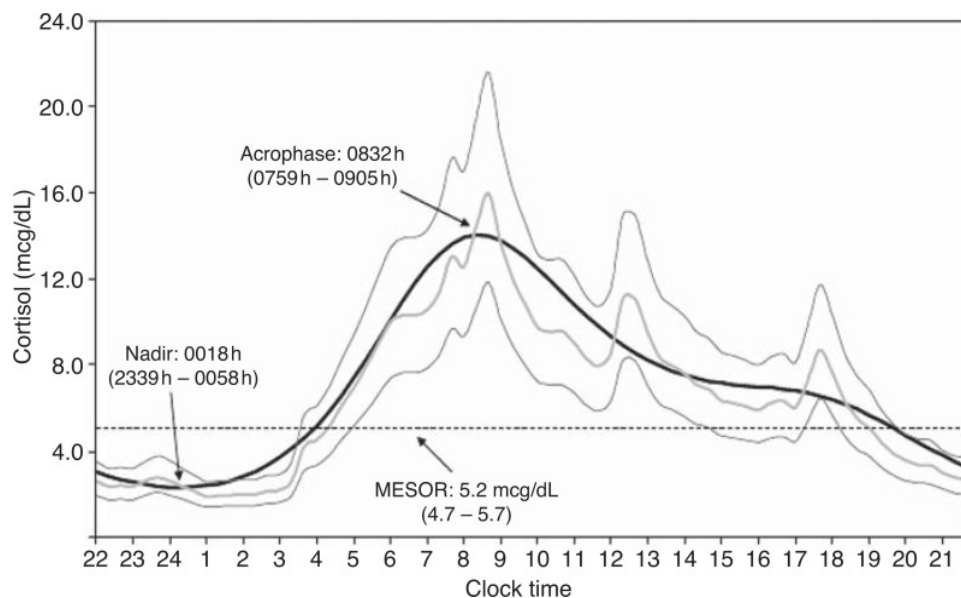


Figura 10 - Andamento circadiano della concentrazione ematica di cortisolo

Queste variazioni cicliche dipendono dai segnali ipotalamici: il nucleo soprachiasmatico dell'ipotalamo riceve segnali dalla retina che gli permettono di sincronizzarsi col ritmo solare e, mandando input all'adenoipofisi tramite CRH e AVP, modula la secrezione circadiana di ACTH, svolgendo una funzione di *pacemaker* per la sintesi di cortisolo. Se una persona modifica il suo ritmo sonno-veglia, la secrezione di cortisolo si modifica in maniera parallela; alterazioni del ritmo circadiano di produzione del cortisolo si verificano anche negli individui non vedenti. Inoltre condizioni associate a insonnia, come depressione, Sindrome da Apnee Ostruttive Notturme, Sindrome da Affaticamento Cronico, Disturbo Post-Traumatico da Stress (PTSD), Disturbo Acuto da Stress (ASD) distruggono il ritmo circadiano del cortisolo, provocando alterazioni metaboliche e aumento del rischio cardiovascolare. La secrezione di ACTH, oltre che avere un ritmo circadiano, è caratterizzata anche da una pulsatilità (15-30 pulsazioni al giorno<sup>105</sup><sup>179</sup>), in quanto la secrezione di CRH è pulsatile.<sup>102 111 175 176 177 180</sup>

L'andamento circadiano sopra descritto dei livelli di cortisolo inizia ad emergere durante i primi due mesi di vita e matura completamente tra i 5 e i 6 anni di età.<sup>181</sup><sup>182</sup> L'incremento della secrezione di ACTH che avviene nelle ore diurne e in risposta allo stress sembra essere l'effetto di un aumento dell'ampiezza degli impulsi di secrezione di CRH, piuttosto che di un aumento della loro frequenza. Siccome l'emivita del cortisolo è più lunga di quella dell'ACTH, la pulsatilità della sua concentrazione è caratterizzata da minore frequenza e minore ampiezza rispetto all'ACTH.<sup>111</sup>

Kirschbaum e Hellhammer (2000)<sup>116</sup> riportano i valori assunti dal cortisolo nella saliva durante le diverse ore del giorno in un gruppo di individui sani. Nel Grafico 1 si possono notare l'andamento circadiano medio del cortisolo (linea rossa) e l'intervallo di  $\pm$  una deviazione standard (linee blu) che si osservano in tale studio.



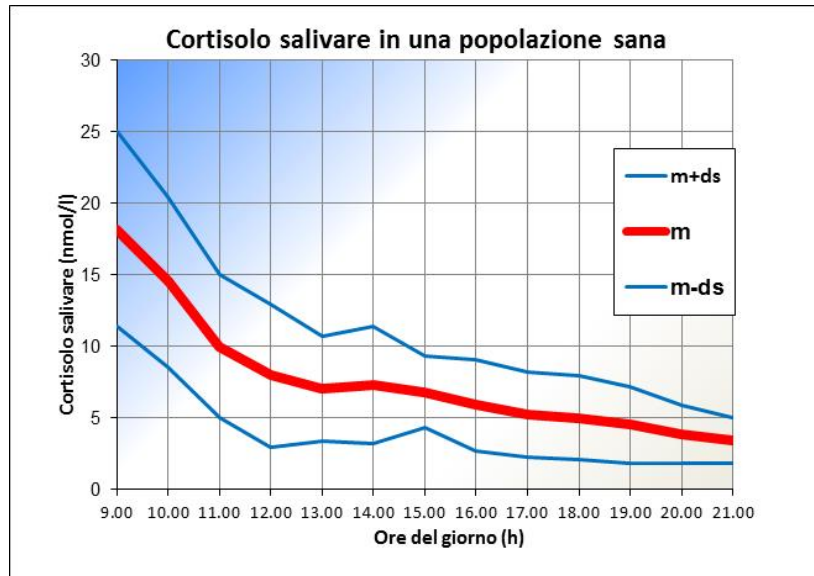


Grafico 1 – Andamento circadiano del cortisolo salivare in una popolazione sana, valore medio  $\pm$  1 deviazione standard (Modificato da Kirschbaum Hellhammer, 2007)

Gröschl et al. (2003)<sup>183183</sup> hanno invece condotto uno studio su una popolazione pediatrica sana di età compresa tra i 5 e i 15 anni, in cui i soggetti raccoglievano autonomamente a domicilio 3 campioni di saliva mediante tampone Salivette® in 3 precisi momenti (h. 7:00, h. 13:00 e h. 19:00) di una giornata libera da eventi stressanti. I dati di questo studio sono stati ottenuti mediante metodi immunometrici di estrazione. Nel Grafico 2 si può osservare l'andamento medio delle misurazioni di cortisolo (linea rossa) con un intervallo di  $\pm$  una deviazione standard (linee blu).

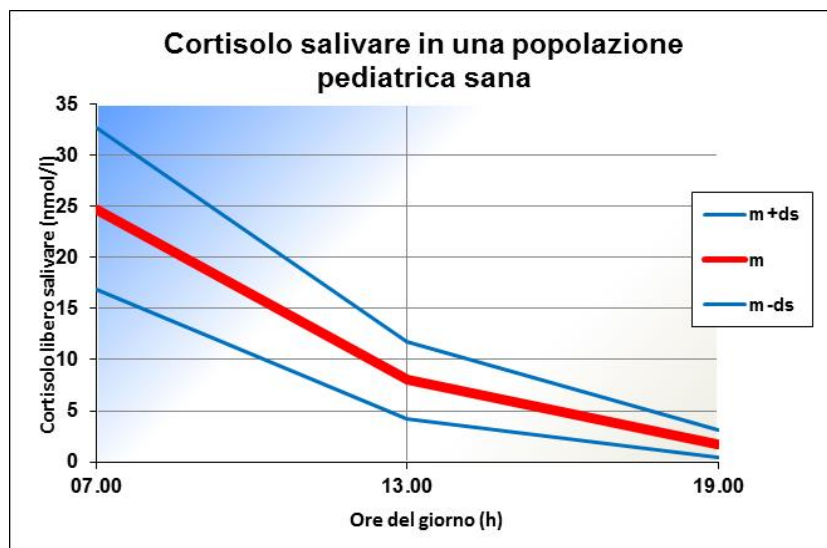


Grafico 2 – Valori di cortisolo salivare medio ( $\pm$  1 deviazione standard) in una popolazione pediatrica (5-15 anni) sana in 3 diversi momenti della giornata: h.7, 13 e 19 (Modificato da Gröschl et al., 2003)

In entrambi i grafici si osserva come i valori mattutini siano i più alti della giornata e come essi decrescano gradualmente durante il giorno, raggiungendo i livelli minimi in serata. Gli elevati valori mattutini sono rappresentativi del picco del cortisolo, cioè della *Cortisol Awakening Response* (CAR).

#### **2.4 Misurazione biochimica dello stress: metodi d'indagine dell'asse HPA**

La letteratura scientifica sullo stress ha nel tempo impiegato diversi indicatori biochimici per valutare il funzionamento dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene (HPA); negli ultimi anni, il cortisolo è stato “eletto” principale indicatore in tal senso.<sup>184 185</sup> Ciononostante, la misurazione dei livelli di cortisolo è resa problematica e difficilmente standardizzabile da diversi fattori. La concentrazione di cortisolo, infatti, può essere modificata da molte condizioni, come ad esempio uno stress fisico o psichico, un'intensa attività fisica, un'infezione o una malattia. Per questo è indicato evitare pesanti sforzi fisici il giorno prima di sottoporsi alla misurazione e raccogliere i campioni in un ambiente il più possibile rilassante, dopo un breve periodo (circa 30 minuti) in cui il paziente è invitato a rilassarsi e a mantenersi in clinostatismo. È inoltre fondamentale il timing delle misurazioni perché i livelli di cortisolo variano durante i diversi momenti del giorno (come già mostrato in Figura 10 ). I dati della misurazione possono inoltre risultare alterati se il paziente è in terapia con farmaci antiinfiammatori steroidei, antiepilettici, androgeni, estrogeni.

Dal punto di vista clinico, i livelli di cortisolo sono valutati per indagare:

- le situazioni di ipercorticosurrenalismo, come ad esempio la sindrome di Cushing, l'adenoma ipofisario ACTH secernente o morbo di Cushing, la sindrome da produzione ectopica di ACTH;
- le situazioni di iposurrenalismo, come il morbo di Addison, l'ipopituitarismo o iposurrenalismo secondario, la soppressione della produzione di ACTH in seguito a terapia con farmaci cortisonici;
- la conservazione del ritmo circadiano della produzione di cortisolo;
- le funzionalità della risposta allo stress e dell'asse HPA.

### **2.4.1 Cortisolo ematico**

I livelli di cortisolo possono essere misurati a livello sierico, mediante prelievo di sangue venoso. La misurazione sierica del cortisolo si avvale di tecniche immunochimiche che si sono evolute nel tempo, passando da procedure complesse, come quelle estrattive o cromatografiche, a sistemi diretti, di più semplice esecuzione, con l'utilizzo di anticorpi ad elevata sensibilità e specificità.

Il cortisolo è presente in circolo nelle seguenti forme:

- la frazione libera biologicamente attiva;
- la quota legata alle proteine di trasporto;
- la quota di steroidi coniugati, esterificati con acido glucuronico e solfati.

Sia il dosaggio sierico diretto, sia quello estrattivo, quantificano la frazione libera assieme alla quota legata a proteine di trasporto, escludendo quindi la quota di steroidi coniugati. Per una quantificazione della sola quota libera, considerata singolarmente, bisogna invece ricorrere ai metodi che utilizzano campioni salivari o urinari.

A fronte della sua semplicità di esecuzione, la misurazione sierica diretta conserva degli elementi di criticità, rappresentati dal fatto che tale misura subisce l'influenza dei livelli del legame del cortisolo con le proteine di trasporto e dei livelli di steroidi coniugati, che possono variare. Per studiare l'andamento circadiano della secrezione di cortisolo, il suo dosaggio sierico andrebbe analizzato in più campioni ripetuti, distribuiti in diversi momenti del giorno. Un campione andrebbe raccolto alle 8 del mattino circa, quando il livello di cortisolo dovrebbe essere al suo massimo durante il picco del mattino; un altro alle 16 circa, quando il livello di cortisolo dovrebbe essere in diminuzione; e almeno un ultimo campione andrebbe raccolto in tarda serata durante il periodo quiescente, quando cioè il cortisolo dovrebbe essere ai livelli più bassi di concentrazione nel sangue (a mezzanotte circa). Normali valori ematici, per un campione raccolto alle 8 di mattina, si aggirano attorno ai 140-700 nMol/L. Nelle ore serali i valori sono ridotti di circa il 50%. I range di riferimento variano da un laboratorio all'altro, in base ai sistemi di misura utilizzati. È facilmente intuibile che questa metodica è invasiva, giacché sottopone il paziente a numerosi prelievi di sangue venoso, ripetuti nel breve periodo. Il prelievo stesso, inoltre, rappresenta un'esperienza

stressante per il paziente e può dunque influire sui livelli di cortisolo ed alterarne i normali ritmi basali. Per questo motivo per lo studio del ritmo circadiano del cortisolo, ci si avvale sempre più di metodiche meno invasive come il prelievo salivare, descritto in seguito.

#### **2.4.2 Cortisolo urinario**

Alternativamente il dosaggio del cortisolo può essere valutato nelle urine. I campioni utilizzabili sono: la raccolta temporizzata di tutte le urine prodotte nel corso di un giorno e di una notte (urine delle 24 ore); la raccolta nel corso di 12 ore; la raccolta mattutina di un singolo campione di urine.

Il campione di urine delle 24 ore è utilizzato per studiare la frazione di cortisolo non legata alle proteine plasmatiche biologicamente attiva, che viene filtrata liberamente dal glomerulo renale ed escreta nelle urine. Questo campione rivela quindi la quantità totale del cortisolo libero secreto nelle urine (cortisolo libero urinario - UFC o CLU), che rappresenta un dato integro della quantità di cortisolo prodotto nella giornata, senza le interferenze dovute ai ritmi circadiani di secrezione. Tale misurazione non permette però di valutare le variazioni circadiane nella secrezione di cortisolo. La raccolta temporizzata, inoltre, comporta numerosi problemi legati alla correttezza dei volumi raccolti, alla conservazione adeguata del campione, al tipo di contenitore utilizzato.

La determinazione del CLU si avvale di metodi immunochimici, diretti o estrattivi, al pari delle misurazioni nei campioni ematici, ma nel campione urinario tali metodi hanno una minore specificità analitica, poiché la concentrazione del CLU è molto più bassa di quella di altre molecole steroidee nelle urine, in grado di cross-reagire con gli anticorpi utilizzati. Tali molecole sono per la maggior parte i prodotti del catabolismo epatico del cortisolo, ovvero: tetraidrocortisolo,  $\alpha$  e  $\beta$  -cortolone e  $\alpha$  e  $\beta$  -cortolo, presenti nelle urine in grande quantità e principalmente in forma coniugata. I valori di riferimento del cortisolo urinario per uomo e donna sono metodo-dipendenti e variano a seconda dei laboratori, con conseguenti problemi di standardizzazione dei risultati. Con i metodi estrattivi il limite superiore di riferimento è compreso tra 110 e 165

nMol/24h (40 – 60 µg/U24h); con i metodi diretti invece il limite superiore è compreso tra 220 – 330 nMol/24h (80 – 120 µg/U24h).

### **2.4.3 Cortisolo salivare**

I livelli di cortisolo possono essere studiati anche con prelievo salivare. La concentrazione salivare di cortisolo ha una buona correlazione con quella della quota libera di cortisolo ematico; la saliva, infatti, è un ultra-filtrato naturale del sangue e la quota di cortisolo plasmatico non legata a proteine di trasporto passa liberamente nella saliva per diffusione passiva attraverso l'epitelio ghiandolare. Ciò avviene in maniera indipendente sia dalle cinetiche molecolari di eventuali meccanismi di trasporto, sia dal flusso salivare, grazie al basso Peso Molecolare (PM 362) e alla scarsa polarità che contraddistinguono la molecola di cortisolo.<sup>116</sup>

I valori assoluti di cortisolo salivare sono minori rispetto a quelli del cortisolo libero ematico in seguito all'azione della 11βHSD2, abbondantemente espressa a livello delle ghiandole salivari; in generale si può comunque considerare che la concentrazione di cortisolo nella saliva rifletta molto bene la quota sierica di cortisolo libero e biologicamente attivo.<sup>116</sup><sup>183</sup> <sup>186</sup> <sup>187</sup> Essendo però le quantità salivari di cortisolo molto basse, i metodi da utilizzarsi per tale misurazione devono essere adeguatamente sensibili e precisi.

A partire dagli anni '80 la misurazione del cortisolo libero salivare ha suscitato sempre maggior interesse. Per specifiche aree di studio, come la ricerca sullo stress, l'analisi della saliva può portare a risultati migliori di quelli ottenuti con l'analisi di campioni ematici. La peculiarità e il grande vantaggio della misurazione del cortisolo tramite campione salivare sono riconducibili alla sua semplicità, alla non invasività, alla ripetibilità a brevi intervalli delle prove e, non da ultimo, ai costi contenuti. Il cortisolo salivare è considerato un *biomarker* di stress psicologico che consente di valutare: il funzionamento dell'asse HPA nella risposta allo stress e il ritmo basale circadiano della secrezione del cortisolo.<sup>187</sup> La raccolta del campione è, infatti, non invasiva, non rischiosa e non stressante, e può essere effettuata autonomamente dal paziente in un ambiente rilassante come quello domestico, senza la necessità di personale sanitario;<sup>105</sup> queste condizioni permettono di effettuare multiple raccolte di saliva nelle diverse ore del giorno

(anche nelle ore notturne) senza alterare i livelli di cortisolo, a differenza di un prelievo di sangue venoso che rappresenta uno stress acuto in grado di alterare esso stesso i livelli di cortisolo. Ciò permette di analizzare i diversi valori di concentrazione che il cortisolo libero assume realmente in condizioni basali nel corso delle 24h. La non invasività della raccolta del campione rende, inoltre, la tecnica adatta anche a pazienti pediatrici ed anziani, specialmente nei casi di fobia degli aghi e garantisce minori problemi etici negli studi sperimentali.<sup>188</sup>

Tuttavia, specie in ambito clinico, l'analisi del cortisolo salivare presenta diversi fattori di criticità. Un primo problema è legato alla tipologia di strumentazione e della misurazione utilizzata: sono ancora in fase di studio strumenti di misurazione specifici e standardizzati e devono essere ancora definiti intervalli di riferimento standardizzati per età, sesso e ora del giorno. Non esistono dati che indichino se misurazioni effettuate con strumenti di raccolta di ditte diverse, oltre che con tecniche laboratoristiche di estrazione dei dati diverse, portino a risultati confrontabili. Attualmente esistono alcuni metodi differenti per raccogliere i campioni da analizzare, che richiedono quantità di almeno 300 microlitri di saliva per un'adeguata analisi: 1) tampone Salivette® a) in cotone, b) in cotone imbevuto di acido citrico per stimolare la salivazione, c) in poliestere; 2) gomma da masticare Trident®, in cui la salivazione è stimolata dalla gomma stessa. Per quanto riguarda i metodi di laboratorio di analisi del campione, in molti laboratori sono ancora utilizzati i metodi immunometrici, tradizionalmente utilizzati per lo studio degli ormoni steroidei; il rationale di questi metodi era quello di utilizzare un anticorpo per il riconoscimento delle molecole da quantificare, ma questi metodi avevano il grosso problema che, considerato che le molecole degli ormoni steroidei, tutti ottenuti dal comune precursore cortisolo, erano facili interferenze tra molecole simili. Si sta dunque passando a metodi d'indagine più innovativi e precisi, che non permettono interferenze tra molecole simili, ma che sono costosi e ancora poco diffusi; si tratta dei metodi spettrometrici, che verranno descritti in seguito nei Materiali e Metodi del nostro studio. Anche per il cortisolo salivare, quindi, i risultati e i livelli di riferimento variano a seconda del laboratorio e del metodo di analisi utilizzato.

Un altro problema è rappresentato dalla raccolta del campione in se stesso, che richiede una buona *compliance* da parte del paziente. Per far fronte a questa criticità, soprattutto con i pazienti ambulatoriali, sono necessari precisi protocolli che regolino la raccolta del campione ed è indispensabile che essi vengano spiegati scrupolosamente al paziente dal personale medico o infermieristico. Sia i metodi di raccolta del campione, sia quelli di analisi dei dati, sembrano dunque richiedere una maggior livello di standardizzazione.<sup>189 190 191</sup>

I principali fattori che influiscono sui valori di cortisolo salivare in età adulta (18-65 anni) possono essere:

- il sesso: le donne sembrano avere un maggiore picco di cortisolo mattutino e un più piatto andamento dei valori pomeridiani;
- il fumo: è stato associato a più alti valori di cortisolo mattutino e serale e ad una minore risposta soppressiva al desametasone;
- l'attività fisica: persone fisicamente attive mostrano più alti livelli di cortisolo mattutini e una più ripida diminuzione dei valori durante il giorno;
- le ore di luce del giorno: diminuzioni di ore di luce solare sono associate a valori di cortisolo mattutini e serali più alti e ad un andamento dei valori pomeridiani più piatto;
- età pediatrica: valori mattutini più bassi rispetto all'età adulta;
- l'età avanzata: comporta valori più alti di cortisolo serale;
- le patologie cardiovascolari: mostrano una correlazione con la diminuzione della Cortisol Awakening Response;
- il sonno: lo svegliarsi presto al mattino e un ridotto numero di ore di sonno sono associati ad un aumento della CAR e ad un andamento appiattito dei valori diurni;
- il lavoro: lavorare il giorno della raccolta del campione induce a più alti valori mattutini e ad una più ripida diminuzione dei valori diurni;
- eventi stressanti: aumentano considerevolmente i valori generali di cortisolo nelle diverse ore del giorno;<sup>192</sup>
- razza-etnia: i soggetti afro-americani hanno una riduzione diurna dei livelli di cortisolo più piatta rispetto ai soggetti caucasici, quindi con valori

mattutini più bassi e valori serali più alti dei pazienti caucasici. I soggetti latini, invece, sembrano presentare livelli serali di cortisolo più bassi di quelli caucasici.<sup>193 194</sup>

- sviluppo sessuale: nei pazienti pediatrici lo sviluppo puberale può incidere sul profilo diurno del cortisolo.<sup>195</sup> In uno studio su un gruppo di adolescenti sane di sesso femminile dai 9 ai 18 anni si sono infatti riscontrate variazioni nei valori e nella CAR, con livelli di cortisolo più alti nelle pazienti post menarca.<sup>196</sup>
- Alimentazione: una dieta non salutare (con molti dolci, cibi grassi e snack) è stata correlata ad alti livelli di cortisolo salivare.<sup>197</sup>

In generale, gli studi sul cortisolo salivare segnalano un'ampia variabilità interindividuale nella funzione dell'asse HPA.<sup>195 198</sup> Studi su coppie di gemelli in età infantile rilevano l'influenza di fattori sia genetici sia ambientali sul ritmo circadiano del cortisolo, in maniera differenziata durante le diverse fasi del giorno: in particolare la variabilità genetica interindividuale è maggiore nei valori di cortisolo del mattino e del pomeriggio; essa è per lo più associabile a fattori ambientali di tipo familiare, che rendono i componenti di uno stesso nucleo più simili gli uni agli altri.<sup>199 200</sup> Uno studio che misura i livelli di cortisolo salivare mattutino in bambini sani della fascia di età 7-15, segnala che maschi e femmine hanno concentrazioni medie simili, (rispettivamente 8,8 e 8,6 nMol/L), ma che le femmine presentano picchi mattutini più alti (53,9 contro 33,2 nMol/L) e minori valori serali.<sup>196 198</sup> Si è inoltre visto che la concentrazione media è più bassa nella fascia di età 7-9, rispetto a quella 10-12.<sup>195</sup> Non c'è ancora accordo a proposito dei valori di riferimento per soggetti pediatrici sani, ma quelli descritti in letteratura si attestano su valori medi di cortisolo mattutino < 30 nMol/L.<sup>201</sup>

#### ***2.4.4 Rapporto cortisolo/cortisone salivare e ulteriori metodi di indagine***

Un altro parametro di vivo interesse e di recente introduzione nello studio dell'asse HPA nella risposta allo stress, valutabile in campioni sia di urine sia di saliva, è il rapporto tra la concentrazione di cortisolo libero (FF – free cortisol) e quella di cortisone libero (FE – free cortisone) [UFF/UFE o SalFF/SalFE ratio]. Questa misurazione permette di studiare l'attività della 11 $\beta$ HSD, che catalizza la



conversione reversibile di cortisolo in cortisone regolandone la biodisponibilità. In particolare elevati valori di FF/FE ratio salivare possono essere indice di una ridotta attività della 11 $\beta$ HSD2 a livello delle ghiandole salivari, e viceversa.<sup>202</sup> Una carenza congenita di attività della 11 $\beta$ HSD2 renale porta ad un eccesso di glucocorticoidi, che vanno pertanto a stimolare i recettori per i mineralcorticoidi provocando la sindrome da Apparente Eccesso di Mineralcorticoidi (Apparent Mineralocorticoid Excess syndrome - AME), caratterizzata da severa ritenzione di sodio e acqua, con ipertensione e ipokalemia.<sup>203</sup> Una ridotta attività di tale enzima è stata recentemente documentata a livello renale in pazienti con depressione maggiore.<sup>203</sup> È inoltre stato osservato che alcuni trattamenti antidepressivi portano ad una riduzione dei livelli di cortisolo nella saliva.<sup>204</sup> In donne in gravidanza, sottoposte a uno stress psicologico acuto, è invece stato riportato che l'attività della 11 $\beta$ HSD aumenta a livello del sistema feto-placentare e che quest'aumento sembra avere lo scopo di difendere il feto da un'eccessiva esposizione al cortisolo materno, mentre si riduce a livello delle ghiandole salivari, come se la sua attività a livello salivare non fosse in grado di far fronte agli aumentati livelli di cortisolo circolante da metabolizzare.<sup>205</sup> Altri studi hanno riscontrato un aumento del rapporto cortisolo/cortisone ematico in situazioni di stress acuto, come ad esempio in un post operatorio, e tale incremento di rapporto è stato interpretato come conseguenza del sovraccarico di cortisolo che si verifica a livello dell'isoforma renale dell'enzima, che in questo modo non riesce ad inattivare abbastanza velocemente l'eccesso di cortisolo in cortisone.<sup>206</sup>

L'attività della 11 $\beta$ -HSD2 nelle ghiandole salivari è stata largamente trascurata nella letteratura riguardante lo stress cronico e ciò può spiegare alcuni dei dati contrastanti nella ricerca sullo stress in merito al cortisolo salivare; l'esatto meccanismo di risposta allo stress della 11 $\beta$ -HSD2 salivare rimane infatti sconosciuto, nonostante esso rappresenti un interessante campo di studio, poiché l'attività di tale enzima sembra essere un parametro utile per meglio comprendere il significato dei valori di cortisolo salivare in relazione allo stress.<sup>205 207</sup>

Ulteriori indagini che offrono l'opportunità di studiare il funzionamento dell'asse HPA sono le seguenti:

- prove stimolatorie:

- test con ACTH: valuta la riserva funzionale della corticale del surrene;
- test con CRH: valuta la capacità dell'adenoipofisi di secernere ACTH;
- test di ipoglicemia insulinica: valuta la risposta dell'asse HPA allo stress neuroglicopenico indotto dall'ipoglicemia, che rappresenta lo stimolo più potente per la secrezione di ACTH;
- prove inibitorie con la somministrazione di desametasone, un glucocorticoide sintetico che dovrebbe inibire la produzione di ACTH e quindi di cortisolo. Questo tipo di prove viene effettuata in presenza di ipercortisolismo per verificare se tale situazione è ACTH dipendente e indagarne le cause.

### **3. STRESS CRONICO E NEUROIMAGING**

Negli ultimi anni stanno crescendo le evidenze scientifiche sui circuiti neurobiologici che orchestrano e che sono implicati nella risposta allo stress e sulle principali strutture cerebrali morfologicamente e strutturalmente alterate nei soggetti esposti a stress cronici.

#### **3.1 Neurobiologia dello stress**

Il cervello è un organo chiave nella risposta allo stress: esso stabilisce quali siano gli eventi da considerare potenzialmente minacciosi, ovvero stressanti, per l'organismo e coordina le risposte organiche e comportamentali in risposta a tali eventi. L'ipotalamo e il tronco encefalico sono due strutture cerebrali "inferiori" essenziali per la risposta autonoma e neuroendocrina agli agenti stressanti, mentre aree corticali superiori, come la corteccia prefrontale, svolgono un ruolo fondamentale nei processi di memoria, elaborazione delle informazioni e *decision making*, implicati nella risposta adattiva allo stress (Figura 11)<sup>5</sup>



Figura 11 - Principali strutture cerebrali “inferiori” (nel cerchio) e “superiori” (nel rettangolo) coinvolte nella risposta allo stress

La maggior parte delle risposte allo stress sono di natura anticipatoria. Esse richiedono l'interpretazione della potenziale minaccia costituita dagli stimoli ambientali, basandosi sulle precedenti esperienze o su risposte istintuali; e sono in gran parte controllate dall'ipotalamo e dalle strutture limbiche come l'ippocampo, la corteccia mediale prefrontale (medial prefrontal cortex - mPFC), e l'amigdala. Tutte queste strutture ricevono informazioni sensoriali rielaborate e, tutte insieme, sono coinvolte nella regolazione delle emozioni, della memoria, del senso di gratificazione e dell'umore.<sup>208 209</sup>

Il nucleo paraventricolare dell'ipotalamo, in particolare, oltre a produrre CRH ha anche la funzione di modulare le informazioni relative allo status fisiologico in corso, ricevendo input dall'ipotalamo dorsolaterale, che ha un ruolo nel controllo dei processi di arousal, e dalle vie ascendenti del tronco coinvolte nel controllo autonomico. Le connessioni tra le strutture limbiche e il nucleo paraventricolare dell'ipotalamo (PVN), elaborate a partire da evidenze su studi animali, sono schematizzate in Figura 12 e costituiscono il *limbic-PVN pathway*.

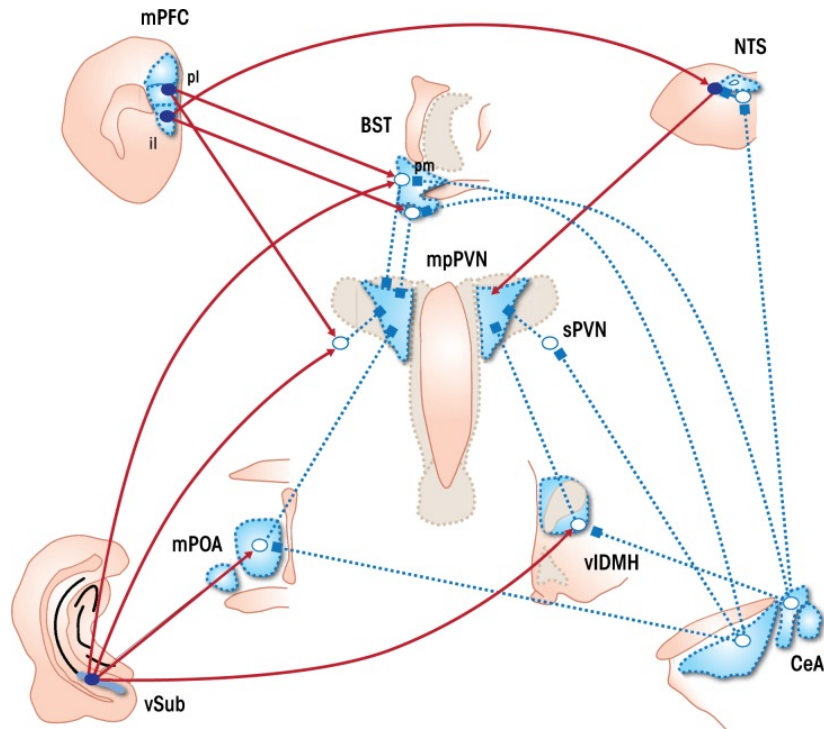


Figura 12- Vie limbiche di integrazione dello stress (modificato da Herman 2012)

In questo network i circuiti situati nelle zone dell'amigdala sono in grado di stimolare un'attivazione dell'asse HPA. Una stimolazione dell'amigdala promuove dunque il rilascio di glucocorticoidi, mentre le sue lesioni comportano una ridotta attività dell'asse HPA.<sup>208 210</sup> L'amigdala è fondamentale per l'attivazione dell'asse HPA di fronte a stimoli emotivi: in essa però si riscontra una marcata specializzazione subregionale per quanto riguarda le funzioni integrative di risposta allo stress. Il nucleo centrale dell'amigdala (central nucleus of the amygdala - CeA), in particolare, è responsivo in modo molto selettivo a stressor quali infiammazione e perdita di sangue; il nucleo mediale (medial nucleus of the amygdala - MeA) dell'amigdala è invece implicato specificamente nella risposta ad altri tipi di stimoli (ad esempio luminosi o sonori).<sup>211 212</sup>

La stimolazione dell'ippocampo, invece, provoca un'inibizione dell'asse HPA, ed il suo ruolo sembra dipendere dal tipo di stress; esso sembra in grado di attivare l'asse HPA in risposta a particolari stressor, come ad esempio quelli psicogeni. Studi su animali hanno inoltre osservato che esso induce l'attivazione dell'asse HPA anche in risposta all'ipossia, mentre media l'effetto opposto in risposta all'immobilizzazione o quando l'animale è posto di fronte ad una novità.

L'ippocampo inoltre partecipa al *feedback* inibitorio di regolazione della secrezione del cortisolo, essendo ricco di recettori per i glucocorticoidi e i mineralcorticoidi.<sup>178208 213</sup> L'ippocampo sembra infine avere un ruolo chiave nella regolazione della CAR; è stato osservato che nell'uomo danni sia mono- che bilaterali di esso sono associati ad un'assenza della CAR<sup>214</sup> mentre maggiori volumi ippocampali sono associati ad una maggiore ampiezza della CAR.<sup>215</sup>

Studi sul modello animale hanno dimostrato che l'inibizione dell'asse HPA è mediata anche dalla zona prelimbica della corteccia prefrontale mediale (mPFC PL)<sup>216</sup>, mentre la zona infralimbica della corteccia prefrontale mediale (mPFC IL) ha mostrato avere un ruolo nell'attivazione della risposta autonoma in risposta a stressor psicogeni (essa manda infatti afferenze al nucleo del tratto solitario),<sup>217</sup> e nell'attivazione del nucleo paraventricolare dell'ipotalamo (PVN), in risposta a stimoli come l'immobilizzazione.<sup>218</sup> La corteccia prefrontale mediale sembra attivarsi principalmente in risposta a stress acuti; oltre a costituire un sito glucocorticoide del *feedback* dell'asse HPA,<sup>219</sup> essa, rappresentando una struttura filogeneticamente più recente rispetto alle altre implicate nella risposta allo stress, sembra avere un ruolo generale di controllo e modulazione.

Diversi mediatori regolano poi l'attività ipotalamica di produzione del CRH a livello del nucleo paraventricolare dell'ipotalamo. Il GABA (acido  $\gamma$ -aminobutirrico), in particolare, media l'inibizione sinaptica e i neuroni che proiettano direttamente al PVN sono principalmente GABAergici. Nello specifico, fibre GABAergiche afferiscono al PVN dalla zona posteromediale del nucleo del letto della stria terminale (bed nucleus of the stria terminalis - BNST), dalla regione sub-nucleo paraventricolare (sPVN), dalla regione ventrolaterale del nucleo ipotalamico dorsomediale (ventrolateral dorsomedial hypothalamic nucleus - vDMH) e dall'area preottica mediale (medial preoptic area - mPOA). Il glutammato (GLU) ha invece un ruolo eccitatorio a livello dei circuiti sinaptici; le fibre glutammatergiche di questo network sinaptico partono soprattutto da ippocampo e corteccia prefrontale mediale e scaricano sulla maggior parte delle strutture GABAergiche appena elencate, eccitandole. Ci sono evidenze che l'input glutammatergico giunga anche direttamente ai neuroni CRH secernenti del PVN e origini da circuiti locali posti in sotto-regioni adiacenti al PVN o dal PVN stesso.

All'interno di questi complessi *pathways* svolge un ruolo anche la noradrenalina, che stimola direttamente il PVN a rilasciare CRH; l'input noradrenergico al PVN origina dal nucleo del tratto solitario (NTS - posto nel tronco encefalico e a cui giungono afferenze sensitive viscerali). L'attività dell'asse HPA viene modulata anche da input serotoninergici,<sup>114</sup> l'ippocampo, infatti, riceve fibre serotoninergiche provenienti dai nuclei del rafe mesencefalico attraverso sia il fascio del cingolo (che innerva soprattutto l'ippocampo dorsale) sia il fornice (che innerva tutte le porzioni dell'ippocampo); anche i nuclei del rafe sono direttamente connessi all'ipotalamo.<sup>178 220</sup>

L'eccitazione delle efferenze glutammatergiche, che partono da corteccia prefrontale mediale e ippocampo, provoca dunque inibizione transinaptica del PVN, in quanto tali efferenze attivano i neuroni GABAergici che scaricano sul PVN. Le efferenze che partono dall'amigdala, invece, sono principalmente GABAergiche, e la loro eccitazione provoca disinibizione transinaptica del PVN, inibendo i neuroni GABAergici che scaricano sul PVN e agendo in maniera opposta rispetto alla corteccia prefrontale mediale e all'ippocampo.<sup>208 210</sup>

Il nucleo del letto della stria terminale (BNST) riceve input da tutte le principali strutture limbiche responsabili della modulazione dello stress e può provocare sia inibizione sia eccitazione dell'HPA. Infatti, la regione postero mediale (pm) del BNST inibisce il PVN (tramite vie GABAergiche); essa riceve afferenze glutammatergiche dalla zona prelimbica della corteccia prefrontale mediale e dall'ippocampo, mentre il nucleo mediale dell'amigdala (MeA) invia ad essa fibre GABAergiche. La regione antero ventrale (av) del BNST, invece, attiva il PVN, e riceve afferenze GABAergiche inibitorie dal nucleo centrale dell'amigdala (CeA) e afferenze Glutammatergiche eccitatorie dalla zona infralimbica della corteccia prefrontale mediale.<sup>208 221 222</sup> L'area preottica mediale e l'area peri-nucleo paraventricolare, infine, sono formate soprattutto da neuroni GABAergici e sembrano mediare un'inibizione tonica dello stress, che può essere modulata dalle fibre GLUTammatergiche afferenti dall'ippocampo e dalle fibre GABAergiche afferenti dal nucleo mediale dell'amigdala.<sup>208 210</sup>

### **3.2 Analisi di post-processing delle Risonanze Magnetiche Cerebrali**

L'interpretazione dell'imaging di Risonanza Magnetica (RM) in neuroradiologia avviene sulla base delle caratteristiche morfologiche, di segnale e di consolidate conoscenze dell'organizzazione ultrastrutturale anatomica e funzionale del sistema nervoso centrale (SNC). Lo studio della sostanza grigia corticale è facilitato dalla sua organizzazione in lobi e circonvoluzioni; questo pattern anatomico, unito alle conoscenze fisiologiche, ha consentito la suddivisione del parenchima cerebrale in aree funzionali, che corrispondono discretamente alla suddivisione basata sulla citoarchitettura delle aree di Broadman e che permettono una discreta associazione fra lesione e deficit funzionale. Date le peculiari caratteristiche di segnale della sostanza grigia è possibile identificare con facilità anche i nuclei della base, strutture di origine diencefalica e telencefalica, composti principalmente da neuroni, come la corteccia, e localizzati profondamente in entrambi gli emisferi nel contesto delle fibre assonali costituenti la sostanza bianca sottocorticale. Una precisa definizione e risoluzione della sostanza bianca è più difficoltosa rispetto alla sostanza grigia, poiché nella sostanza bianca non sono presenti reperi anatomici definiti come nel caso della corteccia, fatta eccezione per le capsule interna ed esterna; inoltre, le fibre che la compongono, possono avere un diverso significato funzionale, con differenti attività di proiezione e di associazione.

Le tecniche di RM attualmente utilizzate nella pratica radiologica, forniscono una rappresentazione completa dell'anatomia macroscopica del parenchima cerebrale, ma non consentono uno studio fine e dettagliato dell'anatomia della sostanza bianca.<sup>223</sup> Le tecniche RM avanzate, come lo studio della diffusione anisotropa delle molecole d'acqua mediante il tensore di diffusione (DTI) permettono di ottenere maggiori informazioni riguardanti l'organizzazione microscopica del SNC, in particolare la trattografia (fibertracking) consente di ricostruire i fascicoli principali della sostanza bianca nel SNC a partire da immagini ottenute mediante sequenze fortemente pesate in diffusione. La trattografia, allo stato attuale, rappresenta l'unica metodica in grado di studiare in modo non invasivo l'architettura tridimensionale delle fibre assonali in vivo, trovando ampio spazio

di applicazione per la visualizzazione e la quantificazione dei processi fisiologici e patologici che prevedono il coinvolgimento della sostanza bianca del SNC.

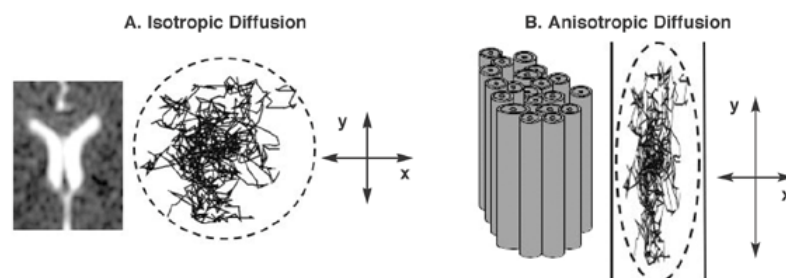
La sostanza bianca cerebrale (SB) è principalmente composta da assoni mielinizzati, dotati di un determinato orientamento spaziale. Gli assoni hanno diametro medio di circa 20 micron e possono riunirsi in fasci di fibre parallele anche di grandi dimensioni. Il principio fondamentale su cui si basano le tecniche di DTI e di ricostruzione traggografica riguarda lo studio dei movimenti casuali delle molecole di acqua nello spazio (moti Browniani di diffusione) che, a livello cellulare, vengono ostacolati dalla presenza delle membrane. La diffusione dell'acqua nella direzione perpendicolare ad un fascio di fibre assionali è ostacolata dalla presenza delle membrane cellulari degli assoni stessi; al contrario, il movimento casuale in direzione parallela al fascio di fibre incontra meno ostacoli (unrestricted diffusion).<sup>224</sup> All'interno dell'assone stesso, l'acqua è circondata da polimeri di proteine disposti parallelamente rispetto all'asse principale della fibra assonale e pertanto, anche in questo caso, la diffusione sarà maggiore nella direzione parallela. I tessuti come la Sostanza Bianca, che possiedono un'architettura con un particolare orientamento spaziale a livello microscopico, mostrano valori differenti se la diffusione delle molecole d'acqua viene misurata nelle diverse direzioni dello spazio. Quando si riscontra una direzione preferenziale della diffusione, allora essa viene definita "anisotropa". Tramite l'opportuno utilizzo di gradienti in sequenze Eco-planari di risonanza magnetica, è possibile misurare la diffusione delle molecole d'acqua nei tessuti biologici.

La tecnica di acquisizione delle immagini di risonanza magnetica, pesate in diffusione, consiste sostanzialmente nel sottoporre i protoni di idrogeno, già posti nel campo magnetico statico, ad un campo magnetico supplementare la cui intensità dipende linearmente dalla posizione dei protoni lungo una direzione (gradiente); i protoni disposti lungo questa direzione saranno caratterizzati da una frequenza di precessione diversa a seconda del campo magnetico risultante (campo magnetico statico sommato all'intensità in quella posizione del gradiente supplementare) a cui sono sottoposti, assumendo pertanto una fase peculiare dipendente strettamente dalla loro posizione nello spazio e dalla durata di



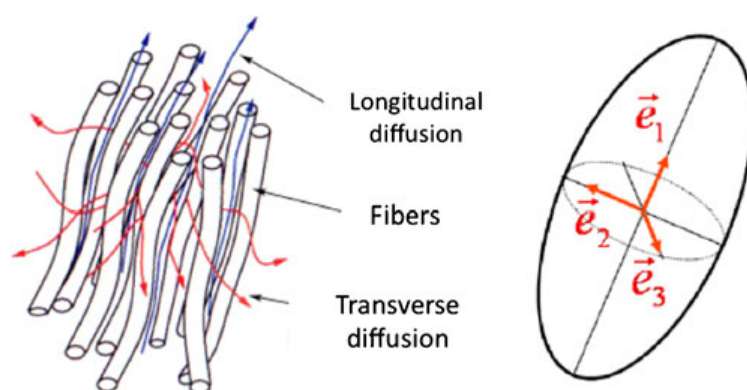
applicazione del gradiente supplementare (l'intensità del gradiente applicato e la durata dell'applicazione vengono espresse con un valore detto  $b$ , dato appunto dal prodotto delle due misure). L'applicazione di un gradiente di segno opposto con " $b$ " identico al precedente dovrebbe riportare tutti i protoni in identica fase. Questo è vero se e solo se i protoni mantengono la stessa posizione durante l'applicazione dei due gradienti magnetici di segno opposto.

In realtà, il fenomeno naturale e spontaneo della diffusione delle molecole di acqua determina delle differenze di posizione dei relativi protoni durante l'applicazione dei due gradienti simmetrici, impedendo il recupero della fase di alcuni di essi; tanto maggiore è il movimento spontaneo, tanto maggiore sarà lo sfasamento risultante. La coesistenza, all'interno di uno stesso voxel di protoni con diverse fasi riduce l'intensità complessiva del segnale proveniente da quello specifico voxel. La perdita di intensità del segnale RM, risulterà pertanto determinata dalla diffusività delle molecole d'acqua a specifiche temperatura e pressione, e dal valore  $b$  del gradiente supplementare, a sua volta espressione della durata e della intensità dei gradienti supplementare di diffusione.<sup>225</sup> Calcolando la perdita di segnale (effettuando una semplice sottrazione dell'intensità di segnale ottenuta dalle immagini acquisite senza il gradiente supplementare, dall'intensità di segnale delle immagini con un gradiente con valore di  $b$  noto) è possibile definire il valore della diffusione delle molecole lungo i differenti piani dello spazio. Quando, nello stesso voxel, i valori di diffusione lungo i tre piani sono coincidenti, vuol dire che l'acqua può muoversi con la medesima facilità in tutte le direzioni dello spazio; la sua diffusività viene pertanto definita "isotropa". Se invece, uno dei valori risulta più elevato rispetto agli altri due, significa che l'acqua segue una direzione di movimento privilegiata rispetto alle altre; pertanto la sua diffusività viene detta anisotropa (Figura 13).



**Figura 13 - Diffusione isotropa e anisotropa**

Quest'ultimo fenomeno è quello che si riscontra comunemente nello studio della sostanza bianca del SNC, data la sua struttura altamente organizzata in fasci e fibre aventi una direzionalità precisa; essa è espressa in termini di anisotropia e tale fattore può essere quantificato mediante un oggetto matematico definito Tensore di Diffusione.<sup>226</sup> La quantificazione della DTI è basata, infatti, sulla costruzione di tale Tensore, descrizione matematica di un ellissoide tridimensionale, il quale a sua volta definisce la quantità e l'orientamento della diffusione in ogni singolo voxel. Il tensore si associa a tre vettori che rappresentano l'orientamento dei tre assi maggiori dell'ellissoide di diffusione (eigen vectors  $\lambda_1, \lambda_2, \lambda_3$ ). (Figura 14)



**Figura 14 - Diffusione longitudinale e trasversale**

La media dei valori numerici dei tre vettori riflette la quantità della diffusione, definita anche come Diffusività Media (MD) o come Coefficiente di Diffusione Apparente (ADC). La differenza tra i moduli del vettore principale rispetto agli altri due, descrive il grado di anisotropia, che sarebbe il grado di orientamento preferenziale di diffusione all'interno del voxel, tipicamente misurata come anisotropia frazionaria (FA), in un range compreso tra 0 e 1 secondo un valore scalare normalizzato. Il vettore con valore numerico più elevato descrive la diffusività assiale AD (longitudinale) e riflette l'integrità assonale, mentre gli altri due quantificano la diffusività radiale RD (trasversa) e descrivono l'integrità della mielina. L'alterazione della microstruttura della sostanza bianca identificata dalla DTI può così dipendere dalla compromissione della mielina, come dalle alterazioni del citoscheletro o della densità assonale.

L'anisotropia frazionaria (FA) è il parametro più utilizzato nell'analisi della DTI, modificando il suo range di valori in base alle caratteristiche microstrutturali del tessuto. Risultati di studi sperimentali hanno dimostrato la dipendenza del coefficiente di diffusione apparente (ADC) dal grado di sensibilizzazione alla diffusività, cioè dal valore di  $b$ , in multiple aree della sostanza bianca cerebrale. Tale fenomeno è in parte spiegato dalla maggiore influenza della perfusione micro circolatoria sulle misure della diffusività dell'acqua a valori bassi di  $b$ . La FA dimostra una minore sensibilità al valore di gradiente applicato per la sua valutazione, rispetto all'ADC, ma per entrambi all'aumentare del valore di  $b$  si assiste anche a una riduzione dei valori delle loro deviazioni standard (SD) consentendo l'ottenimento di un range di valori più omogeneo e vicino ad una soglia di normalità. Ad esempio, la FA del sistema ventricolare che contiene principalmente liquor, avrà un valore intorno allo 0; mentre la FA del corpo calloso dove le fibre assonali sono organizzate in fasci regolari e paralleli dimostrerà un valore intorno a 0.8-0.9.<sup>227</sup> Un valore di FA inferiore a quello atteso in una regione di piena sostanza bianca, può essere un indice di compromissione dell'integrità della stessa. Tuttavia la FA è sufficientemente sensibile alla disomogeneità del tessuto derivante dagli incroci di fibre all'interno dei voxel e da fenomeni di volume parziale. Se l'area investigata cade in una regione ove si incrocino multipli fasci di fibre in diverse direzioni, il valore di FA potrà risultare più basso senza tuttavia che ci sia una ridotta integrità delle fibre stesse, ma solo in base alla mancanza di un orientamento predominante all'interno del voxel.

### ***3.2.1 Acquisizione delle immagini***

Per il calcolo del tensore di diffusione è necessario acquisire una serie di immagini RM, mediante sequenze Eco-planari, variando la direzione e l'intensità dei gradienti. La risoluzione che si riesce ad ottenere mediamente è compresa tra 2 e 5 mm; sufficiente a distinguere la sostanza grigia dalla bianca. La pesatura in diffusione è determinata dall'intensità dei gradienti applicati (fattore  $b$ ); maggiore è l'intensità dei gradienti applicati migliore sarà la pesatura delle sequenze e la possibilità di calcolo del coefficiente di diffusione.

Dal punto di vista matematico sono necessari i valori di diffusione secondo almeno sei differenti direzioni per definire il tensore (ovvero l'ellissoide rappresentante la diffusione nello spazio delle molecole d'acqua in un determinato voxel); la maggior parte dei programmi utilizza da un minimo di 6 ad un massimo di 128 direzioni esplorate, per ottenere i dati utili alla ricostruzione delle mappe di FA e della composizione trattografica. Il tensore di diffusione fornisce due tipi di informazioni su ogni voxel: una stima quantitativa dell'anisotropia e l'orientamento spaziale delle fibre. La trattografia afferra poi a tali informazioni parcellari, per ottenere la ricostruzione iconografica dei tratti di fibre assonali.

### ***3.2.2 Tecniche di ricostruzione delle fibre***

L'algoritmo utilizzato dalla maggior parte delle tecniche di trattografia si basa sulla definizione di un punto iniziale (seedpoint) definito sull'immagine, successivamente ci si sposta su uno dei voxel vicini evidenziato a sua volta secondo un algoritmo definito di "propagazione lineare"; l'informazione contenuta nei voxel vicini a quello di partenza viene analizzata, per definire le traiettorie più probabili e per minimizzare l'effetto del rumore. A questo metodo può essere aggiunto un livello di maggiore complessità, imponendo delle limitazioni al grado di curvatura del tratto ricostruito. Presupponendo che il percorso seguito da un tratto di fibre nervose presenti solo curvature ragionevolmente morbide, ogni qualvolta si presentino due traiettorie possibili, sarà scelta quella con la curvatura minore. Le curve troppo strette (con angolazioni maggiori di  $60^\circ$  o  $75^\circ$ ) verranno totalmente escluse dal computo delle traiettorie possibili.<sup>228</sup> In questo tipo di algoritmi, a propagazione lineare, può essere necessario interpolare il vettore in esame nel punto di arrivo del vettore precedente; tale operazione matematica consente di ottenere le coordinate di un punto nello spazio, a partire dalle coordinate numeriche dei punti circostanti. Applicando questo metodo possiamo ottenere traiettorie più uniformi rispetto ad altri algoritmi, ed inoltre dimostreranno una minore sensibilità al rumore. La scelta del punto d'inizio da cui origina la propagazione lineare deve essere fatta attentamente, poiché questa scelta andrà ad influenzare l'effetto del rumore sulla propagazione stessa. Per evitare che siano scelti come punti di inizio voxel non

contenenti fibre, è possibile imporre un criterio di accettazione del punto iniziale, solitamente basato sull'impostazione di un valore minimo per l'anisotropia frazionaria, per assicurarsi la presenza di una fibra ben delineata nel punto di origine. Le direzioni identificate in questo modo non possiedono un verso proprio, pertanto la ricostruzione sarà sia anterograda che retrograda. Analogamente al punto di origine, è indispensabile introdurre un criterio per definire il termine del processo di propagazione; anche in questo caso il criterio più immediato si basa sul valore di anisotropia frazionaria (FA), stabilendo una soglia al di sotto della quale il processo di propagazione termina. Questo tipo di criterio impedisce la ricostruzione di fibre non organizzate in fasci, però è possibile che la ricostruzione s'interrompa anche in quei voxel contenenti fibre con bassi valori di FA in corrispondenza di incroci di fasci assonali.

Un altro criterio applicabile è dato dalla curvatura del tratto di fibra ricostruito, assumendo che la curvatura della fibra nei voxel non possa essere troppo stretta, la propagazione lineare s'interrompe dinanzi ad una curvatura troppo stretta (angolo  $>75^\circ$  i.e.); questo criterio è difficilmente applicabile per quei tratti di fibre troppo corti o troppo tortuosi, ove la risoluzione spaziale limitata non consente all'algoritmo una ricostruzione accurata.

Gli algoritmi globali sono un'altra modalità di approccio al problema della ricostruzione delle fibre. In questi è utilizzata non l'informazione locale dei singoli voxel, bensì l'informazione globale, creando una funzione matematica che riproduca le caratteristiche strutturali dei diversi fasci di fibre.<sup>229</sup> Ad esempio, è possibile creare una funzione in grado di rappresentare il fenomeno per cui la velocità di propagazione è massima lungo le fibre e minima nelle direzioni perpendicolari ad esse; con questa tecnica il percorso della fibra coinciderà con il percorso più veloce.

Un'altra tecnica prevede invece la definizione di una funzione riferibile ad un consumo energetico e poi trovare il percorso che renda minima tale funzione; si identifica così anche in DTI la funzione per la quale vi è un dispendio energetico minore se il percorso corrisponde alla direzione indicata dai vettori del campo, che invece diviene di maggiore entità se il percorso risulta perpendicolare ad essi. Il calcolo del valore di questa funzione per tutti i percorsi possibili consente

l'identificazione della traiettoria ideale, come quella che minimizzi il valore della funzione energia.

A metà strada tra questi due metodi si trovano i metodi probabilistici i quali, ogni volta che l'algoritmo deve propagare la linea da un voxel a quello successivo, assegnano alle scelte possibili un valore di probabilità, dipendente dal valore misurato della diffusione. Si assume che ripetendo questa propagazione lineare per un numero elevato di volte, il percorso reale della fibra corrisponda a quello che è stato effettuato per la maggior parte delle volte. Questi metodi consentono una stima semi-quantitativa del livello di connettività fra due regioni e sono meno influenzati dalle limitazioni tipiche degli algoritmi di propagazione lineare.

#### **4. STRESS E MALTRATTAMENTO: L'IMPATTO SULLA SALUTE E SULLO SVILUPPO**

Il sistema di risposta allo stress, come già descritto, costituisce una risposta adattiva a eventi stressanti che minacciano la salute e la sopravvivenza dell'organismo. Risposte quantitativamente e qualitativamente adeguate a stressor non estremi e non ripetuti cronicamente nel tempo sono essenziali per un buon adattamento all'ambiente. Viceversa, stress eccessivi e risposte inappropriate agli stessi possono mettere in pericolo la crescita, lo sviluppo e la salute dell'organismo, comportando problemi comportamentali, endocrini, metabolici, cardiovascolari, autoimmuni e allergici.<sup>2</sup> L'insorgenza e l'evoluzione di queste condizioni dipendono da una serie interconnessa di variabili genetiche, epigenetiche, biologiche, psicologiche, ambientali. Gli individui si differenziano l'un l'altro per la personale vulnerabilità costituzionale di fronte a stressor specifici, per i quali si può essere dotati di maggior o minor resilienza, che consiste nella capacità di far fronte a eventi avversi senza incorrere in conseguenze post-traumatiche. L'esposizione a fattori stressanti in periodi critici, come quelli legati alla crescita dell'organismo, costituisce un fattore di rischio per lo sviluppo di conseguenze gravose sullo stato di salute. Lo sviluppo prenatale, l'infanzia e l'adolescenza sono momenti di maggior vulnerabilità allo stress: la presenza di eventi stressanti in quest'epoca precoce di vita dell'individuo può,

infatti, avere degli effetti prolungati e invalidanti. Tali effetti sono determinati costituzionalmente e/o epigeneticamente e sono in larga misura mediati dal sistema neuroendocrino, dal sistema immunitario e dal sistema nervoso.

Il maltrattamento ai minori contribuisce pesantemente alla mortalità e alla morbilità infantile, implicando numerosi effetti, a breve e a lungo termine.<sup>230</sup> In generale il maltrattamento ai minori comporta un grave pregiudizio per lo sviluppo del minore causando numerosi e importanti esiti sia organici che psichici. Gli esiti sul piano organico sono evidenti soprattutto in forme di maltrattamento come la Shaken Baby Syndrome, che può provocare gravi quadri come tetraparesi, cecità o fratture scheletriche; oppure nella Sindrome di Munchausen per Procura, in cui l'assunzione di farmaci o l'esposizione a interventi e indagini mediche possono mettere seriamente a rischio la vita del paziente. Dal punto di vista psicologico il maltrattamento costituisce un trauma di vasta portata per il minore che lo subisce e, in quanto tale, può causare nel breve o nel lungo termine un impatto a livello comportamentale, cognitivo, affettivo, relazionale e intrapsichico.

Come abbiamo già descritto in precedenza, le diverse forme di maltrattamento costituiscono un evento avverso ad elevata valenza stressante, con grave impatto neuro-psico-biologico. A livello biologico, si riscontrano innanzitutto: alterazione dell'asse HPA; concentrazioni alterate di CRH, AVP, ACTH, cortisolo, melatonina e minerali; funzionamento alterato dei neurotrasmettitori. A livello neuroanatomico, la letteratura attesta che il maltrattamento comporta: una riduzione globale volume cerebrale e della materia grigia; una diminuzione di ippocampo, insula, giro cingolato, corteccia prefrontale; un'iper-attivazione e un'ipertrofia dell'amigdala. A livello psicologico, infine, il maltrattamento nelle sue molteplici manifestazioni è causa di deficit funzionali a livello cognitivo (memoria, attenzione e funzioni esecutive), comportamentale (condotta, sonno, alimentazione), affettivo (ansia e umore), relazionale (disturbi di personalità, ritiro) e intrapsichico (scarsa autostima, falso Sè).

Il cervello umano è ancora in fase di pieno sviluppo durante l'infanzia, attraverso processi di rimodellamento sinaptico, di mielinizzazione attività-dipendente e morte cellulare programmata, che interessano l'organizzazione della materia sia

grigia, che bianca.<sup>231</sup> La plasticità del cervello del bambino, dunque, intesa anche come la “capacità del sistema nervoso di modificare la struttura e le proprie funzioni durante la vita in reazione alle diversità ambientali”,<sup>294</sup> implica che l’esposizione precoce ad esperienze ambientali svantaggiose e a gravi forme di stress come il maltrattamento minorile, possa determinare una cascata di cambiamenti fisiologici, neuroendocrini e neurochimici, con conseguenti alterazioni permanenti dello sviluppo, della struttura e della funzione del cervello.<sup>311</sup> Da ciò si evince che eventi stressanti precoci nella vita di un individuo, combinati con fattori genetici, possano comportare, a lungo termine, alterazioni della risposta allo stress, della crescita e dei processi cognitivi, emotivo-psicologici, sociali e comportamentali.<sup>5 311</sup> Le sequele neurobiologiche dello stress precoce e del maltrattamento possono, inoltre, giocare un ruolo significativo nella comparsa di disturbi organici e psichici durante lo sviluppo.<sup>294</sup> In generale, i danni individuali sui diversi livelli saranno tanto maggiori quanto maggiori sono la cronicità, la precocità, la severità e la comorbidità del maltrattamento.

#### **4.1 L’impatto biochimico**

Come abbiamo già descritto, i principali mutamenti biologici provocati dallo stress sono la stimolazione del sistema nervoso centrale (SNC) a liberare CRH e ACTH, del sistema nervoso simpatico (SNS) a liberare catecolamine (adrenalina e noradrenalina) e della corteccia surrenale ad aumentare la secrezione di corticosteroidi (cortisolo). Tali sostanze attivano l’organismo per garantirne la sopravvivenza, attraverso processi fisiologici che coinvolgono sia il sistema neuroendocrino che il sistema immunitario. In questo modo l’organismo viene aiutato nel rispondere e fronteggiare l’avversità degli *stressor*, siano essi di natura fisica, chimica, biologica, psichica. Un grado contenuto di stress può comportare effetti benefici sull’organismo, affinandone le capacità di adattamento all’ambiente, cioè migliorando la percezione, l’attenzione, la concentrazione, la memoria, l’apprendimento. Gli effetti benefici dello stress possono beneficiare anche sul funzionamento del sistema immunitario, mantenendolo vigile e pronto ad innescare una risposta adattiva, pertinente ed efficace. In questa prospettiva, lo



stress costituisce una sorta di “sale della vita”, come lo stesso Selye aveva messo in evidenza,<sup>9</sup> da cui deriva il concetto di “eustress” inteso come stress benevolo (dal greco, il suffisso “*eu*” che significa “bene”). È solo quando gli stress diventano eccessivi e quindi malevoli per l’organismo, minacciandone la sopravvivenza, che si parla di “distress”, cioè di stress deleterio alla salute dell’organismo (dal greco, il suffisso “*dys*” che significa “male”). Non è solo il tipo o la qualità dello *stressor* a determinarne la valenza positiva o negativa, ma soprattutto il modo in cui l’individuo li interpreta ed elabora, sia da un punto di vista biologico che psichico.

Molti studi sono stati dedicati all’evoluzione del sistema neuroendocrino e del sistema immunitario separatamente; il fatto che questi sistemi reagiscano e cooperino fra loro ha indotto gli scienziati a vedere la loro evoluzione in maniera armonica e integrata. I dati di letteratura dimostrano che il sistema neuroendocrino e il sistema immunitario si scambiano continuamente messaggi, dialogando tra loro attraverso molecole comuni (*cross-talk*). La risposta ancestrale e primitiva allo stress è sempre stata guidata dalle cellule del sistema immunitario, essendo le uniche capaci di produrre contemporaneamente numerosi ormoni, neuropeptidi e ammine biogene. Nei vertebrati, tale situazione è tuttora presente e ci spiega perché la risposta allo stress sia caratterizzata da un coinvolgimento centrale e periferico delle cellule neuroendocrine e immunitarie.<sup>232</sup> Da ciò si evince come i sistemi neuroendocrino e immunitario siano evolutivamente interconnessi e quanto sia necessario considerarli in maniera integrata (in un unico sistema definito “immunoneuroendocrino”) per comprendere al meglio i meccanismi di risposta allo stress.

#### ***4.1.1 Effetti sul sistema neuro-endocrino***

Il cortisolo salivare, nonostante i limiti descritti, risulta un valido indicatore per lo studio dello stress nei pazienti pediatrici, motivo per cui ad oggi è il metodo più utilizzato dalla letteratura scientifica negli studi che identificano il cortisolo come *biomarker* dello stress.<sup>105 233</sup> Sono senz’altro più numerosi e più consistenti gli studi sullo stress in età adulta rispetto a quelli in età pediatrica, ancora scarsi. Attualmente, inoltre, sono ancora esigui gli studi che correlano indagini

biochimiche e indagini psicometriche,<sup>191</sup> nonostante tale integrazione possa rappresentare la formula ideale per lo studio dello stress e del suo impatto sull'individuo.

La letteratura si divide in due nel descrivere gli esiti di stress subiti nel corso della vita; alcuni studi riscontrano un aumento dei valori di cortisolo, altri una loro diminuzione. In entrambi i casi, però, emerge l'evidenza che uno stress importante, soprattutto se subito in età pediatrica, può indurre conseguenze a lungo termine nel funzionamento dell'asse HPA. Numerosi studi valutano i livelli di cortisolo e il funzionamento della risposta allo stress non in condizioni basali, bensì in condizioni di stress acuto e/o cronico, come ad esempio prove d'esame, in condizioni sperimentali e non. Un recente studio spagnolo, ad esempio, analizza il ritmo circadiano di secrezione del cortisolo tramite plurimi campioni di cortisolo salivare (5 al giorno) di neolaureati in medicina durante la preparazione dell'esame nazionale di ammissione alle scuole di specialità. I risultati ottenuti hanno riscontrato degli aumenti consistenti dei livelli di cortisolo salivare, sia nella condizione di stress cronico (preparazione all'esame), sia in quella di stress acuto (durante le prove d'esame).<sup>234</sup> Tra i numerosi studi che valutano il funzionamento dell'asse HPA in condizioni di stress, alcuni utilizzano delle prove sperimentali, prima tra tutte il Trier Social Stress (TST), per valutare la buona funzionalità della risposta allo stress in situazioni in cui un adeguato innalzamento dei livelli di cortisolo dovrebbe garantire la buona riuscita del compito.<sup>235</sup>

Un filone molto indagato riguarda lo stress in ambito lavorativo. Numerosi studi si sono infatti dedicati a studiare le correlazioni tra i livelli di cortisolo e i lavori a rischio, o la percezione che il lavoratore ha del suo benessere sul lavoro. La maggior parte di tali studi è concorde nel rilevare dei livelli incrementati di cortisolo diurno, con picchi ingranditi le prime ore del mattino, in correlazione a elevato stress percepito a livello lavorativo. Gli stress presi in considerazione riguardano diverse condizioni lavorative, alcune di tipo ambientale (es. smog, esposizione a sostanze tossiche, orari, turni), altre di tipo psicologico (professioni di aiuto, mobbing, ambienti particolarmente competitivi).<sup>236 237 238 239 240 241 242</sup>

Anche in ambito pediatrico, vi sono numerosi studi di questo tipo. Ad esempio, uno studio belga, condotto su bambini di scuole elementari (5–10 anni), evidenzia

che bambini e bambine con un vissuto negativo nei 3 mesi precedenti la rilevazione dei livelli di cortisolo, hanno una più rapida diminuzione dei valori di cortisolo diurni; mentre bambini con una situazione di maggior serenità presentano livelli di cortisolo salivare più bassi. Nelle bambine, problemi di relazione con i compagni sono stati associati a più bassi valori di cortisolo durante le 24h. Si sono osservate inoltre delle differenze significative di funzionamento dell'asse HPA correlate al sesso.<sup>243</sup>

In ambito neuropsichiatrico e psichiatrico, la maggior parte degli studi si è finora focalizzata sul Disturbo Post-Traumatico da Stress (PTSD) e sul Disturbo Acuto da Stress (ASD). In tali classi diagnostiche, la maggior parte degli studi è concorde nel rilevare degli elevati livelli di cortisolo nei soggetti con tali diagnosi. Anche il Disordine Oppositivo Provocatorio e la Fobia Sociale sono però stati associati nei bambini a maggiori livelli di cortisolo salivare. Nello stesso studio è stato dimostrato che la presenza di una buona componente di cure affettive, associata a fattori come una buona qualità del sonno, una dieta equilibrata e la pratica di esercizio fisico, sono correlati a minori livelli di cortisolo.<sup>191 244</sup> Altri studi in ambito psichiatrico attestano la ricorrenza di eventi stressanti precoci nella vita di persone affette da disturbi psichiatrici e psicopatologici, soprattutto traumi infantili della portata delle diverse forme di maltrattamento. Gli abusi infantili, infatti, spesso ricorrono nell'anamnesi di soggetti psichiatrici, anche se ad oggi non sono ancora conosciuti i meccanismi biologici alla base dell'interconnessione tra gli eventi di vita avversi subiti in età precoce e lo sviluppo di psicopatologie nel breve o nel lungo termine.<sup>245 246 247 248</sup>

Una serie di studi, quindi, si sono più specificamente focalizzati sul funzionamento dell'asse HPA nei casi di maltrattamento. La maggior parte di questi studi valuta i livelli circadiani di cortisolo in adulti che hanno subito maltrattamenti in età pediatrica. Ad esempio, in donne con dolore cronico e storia di maltrattamento infantile si riscontrano aumentati livelli di cortisolo diurno.<sup>249</sup> Uno studio su giovani pazienti sani, invece, rileva che chi ha vissuto traumi infantili, mostra una risposta a stress psicologici meno accentuata rispetto a chi non ha vissuto traumi.<sup>250</sup> Anche donne con una storia di abuso fisico infantile mostrano un più debole incremento di cortisolo salivare in risposta ad una prova

stressante rispetto ad un campione sano.<sup>251</sup> Uno studio canadese condotto su bambini dai 6 ai 12 anni adottati che avevano vissuto in orfanotrofi rumeni per più di otto mesi nel loro primo anno di vita, mostra che questi bambini hanno livelli di cortisolo salivare diurno maggiori rispetto a quelli di bambini adottati precocemente o nati in Canada. Inoltre, più lungo è stato il periodo di istituzionalizzazione di questi bambini, più elevati sono i loro livelli di cortisolo salivare. La variabile determinante, considerate le condizioni generali di un ambiente come l'orfanotrofio, non può però essere isolata ex post dai molteplici fattori di rischio.<sup>252</sup> Uno studio condotto su bambini di 12 anni, vittime di bullismo/maltrattamento sottoposti ad uno stress psicosociale, registra una risposta allo stress con più bassi livelli di cortisolo rispetto ad un gruppo di controllo formato da individui sani.<sup>253</sup> Pazienti con *Cronic Fatigue Syndrome* (CFS) mostrano un pattern di ipocortisolismo e un'attenuazione della CAR.<sup>254 255</sup> In uno studio su pazienti con disturbi di personalità, con un trauma infantile in anamnesi, l'analisi dell'andamento del cortisolo basale salivare dimostra che chi è stato vittima di abuso fisico presenta livelli più bassi di cortisolo basale salivare, mentre, chi è stato vittima di neglect, ha livelli di cortisolo basale salivare più alti.<sup>256</sup> Uno studio sui pattern di cortisolo basale salivare nelle 24h di pazienti adulti adottati con storie di abuso e neglect riporta risultati per certi versi opposti: nei soggetti adottati, vittime di neglect o abuso prima dell'adozione, i livelli mattutini di cortisolo sono più bassi rispetto a quelli dei soggetti adottati che non avevano mai subito abuso o neglect. Inoltre chi è stato vittima di neglect evidenzia un appiattimento dell'andamento del cortisolo rispetto ai soggetti adottati che non avevano subito neglect. Al contrario, chi è stato vittima di abuso manifesta livelli di cortisolo più alti ed una più ripida diminuzione dei valori diurni di cortisolo, rispetto a chi non aveva storie di abuso. Si nota dunque come una precoce esperienza di maltrattamento possa influire sull'andamento del cortisolo basale in età adulta, anche quando il soggetto è cresciuto in un ambiente diverso da quello maltrattante.<sup>257</sup> A simili risultati si giunge anche in una recente review su bambini in affido; in essa si riscontrano ridotti livelli di cortisolo salivare (mattutino e serale), ed un appiattimento dell'andamento circadiano, in associazione a situazioni di stress cronico, come ad esempio maltrattamento o neglect, sia per i

bambini dati in affidamento, sia per quelli che vivono con i propri genitori biologici. Più bassi livelli di cortisolo salivare al risveglio e un appiattimento dell'andamento dei livelli di cortisolo salivare durante il giorno si riscontrano in bambini coinvolti nel CPS (Child Protective Services, un'agenzia governativa americana che gestisce i casi di maltrattamento ai minori). In particolare tra essi, quelli che continuano a vivere con i genitori biologici, mostrano un maggior appiattimento dei livelli di cortisolo rispetto ai bambini CPS dati in affido.<sup>258 262</sup>

In questo filone, vari studi recenti affermano che una situazione di trauma o di stress cronico in soggetti pediatrici si associa ad una condizione di ipocortisolismo.<sup>258 259 260 261 262 263 264</sup> Un bambino sottoposto ad uno stress

cronico sembra sviluppare un processo di adattamento allo stress, che conduce ad una iporeattività dell'asse HPA, misurabile tramite valori di cortisolo salivare.<sup>265</sup>

Si nota che bambini adottati spesso subiscono una situazione di forte stress prima dell'adozione, ma che una considerevole parte di essi non mostra segni o sintomi, rendendo difficile, per il genitore affidatario, la presa di coscienza dei livelli di stress presenti nel figlio adottivo. Sembra interessante poter utilizzare i valori di cortisolo salivare come strategia per diagnosticare alterati livelli di funzionamento dell'asse HPA nei bambini adottati, o più in generale, nei bambini in cui si sospetta una condizione di stress acuto e/o cronico. Parallelamente è di altrettanto interesse poter utilizzare il cortisolo salivare come metodo per quantificare l'effetto positivo di interventi volti a ridurre lo stress, che inducono una normalizzazione dell'asse HPA e conseguentemente dei livelli di cortisolo.<sup>105 258</sup>

In conclusione, i dati esistenti in letteratura, relativi al cortisolo salivare basale e al cortisolo in risposta a stimoli stressanti, confermano che esso è potenzialmente un prezioso marker biologico per lo studio dello stress. Essi però sono in parte discordanti sui risultati, di cui non esiste un'univocità d'interpretazione.<sup>266</sup> Tali discordanze potrebbero essere dovute a differenze nell'intensità o nella durata degli eventi stressanti riportati o a variabili esterne. Sono state osservate molte variazioni, sia intra- che inter-individuali, nei valori di cortisolo basali e durante le risposte ad eventi stressanti.<sup>267 268</sup> I livelli di cortisolo potrebbero variare in risposta a vari fattori individuali, come sesso, peso, stadio di sviluppo puberale, età, fattori genetici, temperamento, sensibilità al dolore, comportamento di fronte

alle difficoltà e fattori sociali.<sup>200 269 270 271 272 273</sup> abbiamo inoltre già visto il ruolo che possono avere la capacità di coping dell'individuo, ovvero le personali risorse che l'individuo riesce a mettere in campo di fronte a situazioni stressanti. Anche le capacità di riparazione, che sono estremamente soggettive e dipendono da fattori sia ambientali che intrapsichici, possono stare alla base dei diversi risultati riscontrati. Se possibile, quindi, le ricerche dovrebbero considerare anche queste diverse componenti nell'analisi multivariata dei valori di cortisolo salivare prima di interpretare i risultati ottenuti. Inoltre, la mancanza di valori di riferimento specifici e condivisi per il cortisolo salivare basale e per il cortisolo in condizioni di stress nei pazienti pediatrici, dimostra la necessità di ulteriori ricerche per la loro definizione.<sup>105</sup>

#### ***4.1.2 Effetti sul sistema immunitario***

E' ormai diventato chiaro che il sistema immunitario debba essere considerato come un sistema complesso per cui si rendono necessari approcci sistemici al fine di investigarne le articolate interazioni tra le sue molteplici componenti. Dagli elementi sopra descritti, si evince che lo stress ha inevitabili e articolati effetti sul sistema immunitario, ancestralmente coinvolto nella risposta ad eventi avversi alla sopravvivenza dell'organismo.

Diversi studi dimostrano come lo stress influenzi sia l'immunità innata che l'immunità acquisita.<sup>274 275 276</sup> I glucocorticoidi e le catecolamine influenzano il traffico e la funzione dei leucociti e delle cellule immunitarie accessorie e sopprimono la secrezione delle citochine pro-infiammatorie (TNF-fattore necrosi tumorale, IL-1, IL-6, IL-8, IL-12). Entrambe le famiglie di ormoni inducono uno spostamento sistemico da una risposta di tipo TH1 (immunità cellulare) ad una risposta di tipo TH2 (immunità umorale).<sup>2</sup> All'opposto, le citochine pro-infiammatorie stimolano il sistema dello stress, anche a livelli multipli, sia nel SNC che nel SNP, interessando l'ipotalamo, il sistema noradrenergico centrale, l'ipofisi e le ghiandole surrenali, le quali aumentano i livelli di glucocorticoidi e conseguentemente sopprimono la reazione infiammatoria. Tali azioni nella loro articolazione costituiscono un sistema di feedback negativo che proteggono l'organismo da una risposta infiammatoria esagerata.<sup>2</sup>

Sono numerosi gli studi di letteratura che hanno valutato l'effetto dello stress sulle capacità di difesa del sistema immunitario. Gli studi sul campo attestano che, attraverso i suoi mediatori, lo stress può portare a condizioni patologiche, sia fisiche che mentali, sia acute che croniche, in soggetti vulnerabili. Lo stress acuto può innescare: manifestazioni allergiche (asma, eczema, orticaria); fenomeni angiocinetici (mal di testa, dolore addominale e pelvico, lombalgia); sintomi gastrointestinali (dolore, cattiva digestione, diarrea, stipsi); attacchi di panico e episodi psicotici brevi. Lo stress cronico può causare manifestazioni organiche come: fenomeni cardiovascolari come ipertensione, disturbi metabolici come l'obesità, la sindrome metabolica o il diabete di tipo II; malattie cardiovascolari arterosclerotiche; malattie degenerative neurovascolari; osteopenia e osteoporosi; disturbi del sonno quali insonnia o sonnolenza diurna.<sup>2</sup>

La patogenesi dei disturbi indotti da stress acuto può essere attribuita agli effetti dei maggiori mediatori dello stress, che hanno un aumento della loro secrezione, nel contesto di una base di vulnerabilità individuale.<sup>277</sup> La patogenesi dei disturbi legati allo stress cronico può essere spiegata, invece, dagli effetti dei maggiori mediatori dello stress, liberati in modo eccessivo e prolungato nel tempo, e dalla “*sickness syndrome*”, che influenzano l'attività di più sistemi omeostatici.<sup>278</sup> Tali disordini rappresentano gli effetti cronici e di disadattamento di processi fisiologici, i cui mediatori dovrebbero essere secreti in quantità e tempo limitati.

Studi su modelli animali di Alzheimer hanno inoltre mostrato che lo stress cronico è in grado di accelerare l'insorgenza di tale patologia, influenzando su alcuni dei processi coinvolti nell'invecchiamento e nell'AD, come l'accumulo di  $\beta$ -amiloide, l'iperfosforilazione della proteina TAU, l'infiammazione, il metabolismo del glucosio, lo stress ossidativo e l'alterazione della funzione mitocondriale e hanno pertanto attribuito ad esso il ruolo di fattore di rischio per AD. Studi epidemiologici sull'uomo indicano infatti che lo stress cronico potrebbe aumentare l'incidenza di AD.<sup>279</sup>

Lo stress cronico è stato anche correlato ad un maggiore rischio di: malattie cardiovascolari (CVD), diabete, patologie autoimmuni, infezioni delle alte vie respiratorie e di una deficitaria guarigione delle ferite.<sup>280</sup> Sebbene queste associazioni siano in genere attribuite alla disregolazione dell'asse HPA indotta

dallo stress, sono pochi gli studi sull'uomo che comprendano la valutazione di eventi stressanti, della risposta dell'asse HPA e i conseguenti esiti di malattia nello stesso soggetto. La mancanza di tali studi è in parte attribuibile alla comprensione ancora incompleta degli effetti dello stress prolungato sull'asse HPA nell'uomo<sup>266</sup> e di quali siano le variazioni dell'asse HPA stress-indotte che svolgono un ruolo nell'aumentare il rischio di malattia. La semplice idea che lo stress cronico agisca attraverso gli effetti diretti di elevati livelli di cortisolo circolante, sta diventando sempre meno probabile: ciò che più importa sembra essere il modo in cui i tessuti bersaglio rispondono al cortisolo, piuttosto che i livelli di ormone di per sé.<sup>281</sup> È ipotizzabile che lo stress cronico determini una resistenza ai glucocorticoidi da parte del loro recettore, che a sua volta esita in un deficit nella down-regolazione della risposta infiammatoria.<sup>418</sup> La resistenza ai glucocorticoidi (GCR) si esprime, infatti, in una diminuzione della sensibilità delle cellule immunitarie a questi ormoni, che normalmente terminano la risposta infiammatoria.<sup>282</sup> Evidenze che suggeriscono il determinarsi di una resistenza ai glucocorticoidi in risposta ad uno stress cronico sono state riscontrate in genitori di bambini con cancro,<sup>283</sup> in coniugi di pazienti con cancro al cervello<sup>284</sup> e in persone che riportavano alti livelli di solitudine.<sup>281</sup> Senza una sufficiente regolazione da parte dei glucocorticoidi, crescono la durata e / o l'intensità della risposta flogistica agli agenti infettivi e il conseguente rilascio di citochine infiammatorie, aumentando così il rischio sia di esacerbazioni acute come avviene nell'asma e nelle malattie autoimmuni, che di insorgenza e di progressione di depressione e di malattie infiammatorie croniche come le malattie cardiovascolari o il diabete tipo II.<sup>285 286</sup> Ad esempio, nel comune raffreddore i tipici segni e sintomi di malattia sono principalmente dovuti al rilascio delle citochine pro-infiammatorie prodotte in risposta all'infezione;<sup>287</sup> una serie di studi ha mostrato che lo stress cronico è associato a un'aumentata suscettibilità a sviluppare un comune raffreddore nelle persone esposte sperimentalmente a un virus delle alte vie respiratorie.<sup>288 289</sup> Esistono prove che lo stress determini un aumento del rischio di malattia in virtù della sua associazione con un'esagerato rilascio locale di citochine infiammatorie.<sup>290 418</sup> Altri studi sembrano confermare questa resistenza del recettore dei glucocorticoidi indotta dallo stress cronico,



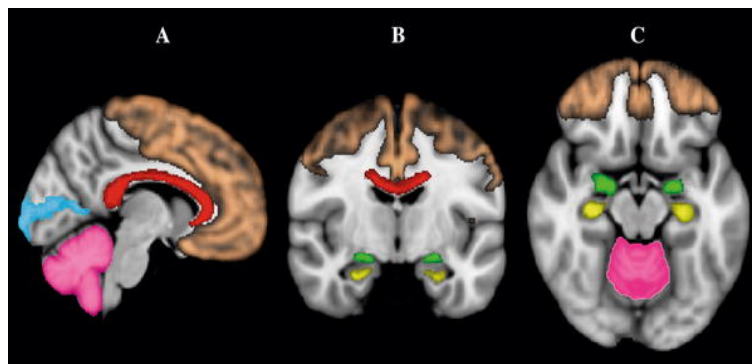
descrivendo come nelle fasi iniziali dello stress l'attivazione dell'asse HPA e del SNS possono *up-regolare* rispettivamente i livelli di glucocorticoidi e di catecolamine, che a loro volta inibiscono la secrezione di citochine pro-infiammatorie, favorendo la secrezione di citochine anti-infiammatorie. Nelle fasi avanzate di stress cronico però, la prolungata iper-attivazione dell'asse HPA può portare ad una resistenza ai glucocorticoidi, in seguito a vari possibili meccanismi tra cui a una ridotta espressione genica del recettore per i glucocorticoidi, e uno stato di *fatigue* dell'asse HPA. Ciò potrebbe contribuire ad una riduzione dell'azione down-regolatrice del cortisolo nei confronti dell'infiammazione, con un aumento delle citochine pro-infiammatorie e ad una riduzione delle citochine antinfiammatorie.<sup>286</sup>

Più classicamente l'ipercortisolismo cronico correlato ad una iper-attivazione dell'asse HPA è associato a vari disturbi tra cui l'ipertensione (che si genera per vari meccanismi tra cui l'azione mineralcorticoide del cortisolo), l'intolleranza glucidica o il diabete mellito franco, per l'aumentata produzione di glucosio dovuta all'incremento della gluconeogenesi epatica, associata alla condizione di insulino-resistenza periferica indotte entrambe dai glucocorticoidi, per cui il glucosio è maggiormente prodotto e meno captato dalle cellule periferiche; queste alterazioni portano a complicanze cardio- e cerebro-vascolari come infarto o ictus. Condizioni di ipercortisolismo si associano inoltre a tromboembolismo, atrofia muscolare indotta dal catabolismo proteico sostenuto dai glucocorticoidi, candidosi orale e infezioni micotiche e opportunistiche a causa dell'azione immunosoppressiva dei glucocorticoidi, indebolimento osseo, obesità a disposizione troncale con arti sottili per la diversa azione esercitata dal cortisolo sugli adipociti delle diverse zone del corpo, con azione anabolizzante sugli adipociti del tronco e del volto, ipogonadismo e alterazioni sessuali per interferenza dei glucocorticoidi con la pulsatilità della secrezione dell'ormone di rilascio delle gonadotropine (*Gonadotropin Releasing Hormone - GnRH*) con una riduzione della visus nell'uomo, irregolarità mestruali nella donna e riduzione di libido e fertilità in entrambi i sessi, possibili strie cutanee rosso violacee e fragilità vascolare con difficoltà di guarigione delle ferite per atrofia cutanea e del connettivo, manifestazioni psichiatriche con labilità emotiva, ansia, irritabilità o

depressione.<sup>184 291 292</sup> Al contrario, condizioni di ipocortisolismo, come ad esempio si possono riscontrare nell'ipossurrenalismo centrale secondario o terziario, sono associate a astenia, facile faticabilità, artralgie, mialgie, dimagrimento anoressia, nausea, vomito e ipoglicemia.<sup>184</sup>

#### 4.2 L'impatto neurocerebrale

Il cervello costituisce un importante target dello stress, con riferimento a regioni specifiche come l'ippocampo e l'ipotalamo, dotate di recettori per i glucocorticoidi e quindi soggette a fenomeni di adattamento in seguito ad esposizione cronica agli ormoni dello stress.<sup>5</sup> Il cervello di un bambino, inoltre, è in piena fase di sviluppo e studi longitudinali di *imaging* strutturale hanno osservato che la materia bianca (WM), con la crescita, mostra un aumento lineare che è più pronunciato tra la prima infanzia e l'adolescenza.<sup>293</sup> La materia grigia (GM), invece, mostra un incremento con la crescita fino ai 10 anni, che si pensa sia dovuto alla proliferazione delle cellule gliali, delle cellule dendritiche e della ramificazione assonale, e poi una successiva diminuzione dopo i 10 anni a causa del pruning sinaptico e della mielinizzazione.<sup>293</sup> Gravi stress precoci ed esperienze di maltrattamento ai minori producono effetti neuroendocrini che possono provocare cambiamenti permanenti nello sviluppo cerebrale, rilevabili a livello sia strutturale sia funzionale. Le principali conseguenze strutturali dello stress precoce includono ridotte dimensioni delle porzioni mediali del corpo calloso e ridotto sviluppo di alcune aree della neocorteccia, dell'ippocampo e dell'amigdala (Figura 12)<sup>5 294 295</sup>



**Figura 12 - Principali regioni cerebrali che mostrano alterazioni strutturali in soggetti traumatizzati. A sezione sagittale, B sezione coronale, C sezione trasversale. Corteccia frontale (marrone), corpo calloso (rosso), cervelletto (rosa), corteccia visiva (blu), amigdala (verde), ippocampo (giallo); (modificato da Rinne Albers 2013 ).**

#### 4.2.1 *Corpo calloso*

Il corpo calloso è la maggiore struttura di sostanza bianca cerebrale, che connette i due emisferi e facilita la trasmissione interemisferica degli impulsi relativi, ad esempio, alle emozioni e alle abilità cognitive.<sup>296</sup> Regioni mielinizzate, come il corpo calloso, vengono alterate dall'esposizione precoce a eccessivi livelli di ormoni dello stress, in quanto essi bloccano la riproduzione delle cellule gliali, che sono fondamentali per un corretto processo di mielinizzazione.<sup>297 298</sup>

Studi su animali hanno osservato che scimmie maschio allevate in un ambiente isolato mostrano un ridotto sviluppo del corpo calloso e che minori dimensioni di corpo calloso sono associate a difetti nell'apprendimento.<sup>299</sup> In letteratura si trovano notizie di studi condotti con RMN cerebrale osservanti una riduzione dei volumi del corpo calloso in bambini e adolescenti con concomitante diagnosi di maltrattamento e *Post Traumatic Stress Disorder* (PTSD) o altre patologie psichiatriche;<sup>300 301 302 303</sup> altri studi trovano la medesima riduzione in donne adulte con una storia di maltrattamento minorile e una possibile concomitante diagnosi psichiatrica, tra cui quella di PTSD.<sup>304 305</sup> Pare, inoltre, che il corpo calloso nei maschi sia più sensibile agli effetti della trascuratezza, mentre nelle femmine sia più sensibile agli effetti dell'abuso sessuale.<sup>303</sup> Significative riduzioni di volume del corpo calloso e del lobo frontale sono state riscontrate anche in pazienti pediatrici e in veterani dell'esercito, con diagnosi di PTSD.<sup>306 307</sup> Altri studi di risonanza su pazienti pediatrici con PTSD hanno però osservato sia un aumento che una riduzione del volume del corpo calloso.<sup>308</sup> Riduzioni di volume di massa bianca a livello del corpo calloso sono stati riscontrati anche in un largo campione di giovani adulti con elevati livelli di stress percepito (misurati con la *Perceived Stress Scale*).<sup>309</sup> In studi condotti sfruttando i potenziali evocati uditivi, per studiare la lateralizzazione e l'integrazione emisferica della memoria negli adulti con storia di maltrattamento infantile, è emersa un'associazione con una maggiore lateralizzazione e una minor integrazione emisferica.<sup>310</sup>

In generale, sembra che il maltrattamento ai minori si associ a ridotte dimensioni del corpo calloso e a ritardo nella sua mielinizzazione, ma sono necessarie ulteriori ricerche per distinguere gli effetti imputabili al solo maltrattamento rispetto a quelli ricollegabili alle varie comorbidità psichiatriche.<sup>311 312</sup> Ridotte

dimensioni del corpo calloso sono comunque state associate ad una ridotta comunicazione tra gli emisferi cerebrali, che di conseguenza tendono a svilupparsi in modo più o indipendente tra loro.<sup>312</sup>

#### **4.2.2 Ippocampo**

La neurogenesi ippocampale si articola nei seguenti complessi meccanismi: proliferazione di cellule progenitrici, differenziazione neuronale e sopravvivenza cellulare.<sup>313</sup> Questi processi possono essere influenzati da una varietà di fattori, tra cui: il sistema dei neurotrasmettitori, fattori di crescita, neuropeptidi, fattori di trascrizione, ormoni sessuali, stress, fattori ambientali, esercizio fisico, abuso di droghe e lesioni cerebrali.<sup>314</sup> Lo stress è uno dei più potenti inibitori della neurogenesi ippocampale;<sup>315 316</sup> studi sugli animali hanno infatti dimostrato che l'ippocampo è vulnerabile ai danni indotti dallo stress, poiché questa regione ha un protratto periodo di formazione, una persistente neurogenesi postnatale e un'elevata densità di recettori per i glucocorticoidi (i quali infatti sono in grado di mediare l'inibizione ippocampale).<sup>317</sup> Diversi meccanismi sono stati suggeriti per spiegare la soppressione della neurogenesi ippocampale mediata dallo stress: aumentati livelli di glucocorticoidi, diminuiti livelli di fattori neurotrofici e un maggiore rilascio di glutammato.<sup>318</sup> Esposizione ad alti livelli cumulativi di corticosteroidi e a un estremo stress cronico, inducono un danno neuronale che selettivamente coinvolge le strutture ippocampali. Vari studi però non sono riusciti a dimostrare la presenza di una massiva perdita di cellule nell'ippocampo a seguito di esposizione a stress o steroidi, dimostrando piuttosto l'insorgenza di cambiamenti strutturali adattativi e reversibili.<sup>319</sup>

L'esposizione cronica ai corticosteroidi può alterare marcatamente la morfologia delle cellule piramidali di questa zona e può anche causarne la morte.<sup>320</sup> Lo stress sopprime inoltre la produzione di nuove cellule granulari ed impedisce il normale aumento di produzione peripuberale delle sinapsi dell'ippocampo dei ratti ma non il loro pruning (riduzione selettiva), portando a un duraturo deficit nella densità sinaptica.<sup>321</sup> Fonti di letteratura evidenziano la riduzione dei volumi ippocampali in seguito a stress cronici (ad esempio in soggetti con diagnosi di PTSD), ma solo in pazienti giovani adulti, non in età pediatrica.<sup>295 297 305 306 307 311 322</sup> Altri studi con

pazienti PTSD hanno osservato minori volumi ippocampali a sinistra e non a destra,<sup>323</sup> e l'esistenza di una correlazione inversa tra le dimensioni ippocampali e il rischio di sviluppare patologie stress-correlate, nello specifico il PTSD.<sup>324 325</sup> Studi post-mortem, che hanno analizzato l'ippocampo di pazienti suicidatisi con storie di maltrattamento infantile, hanno riscontrato una ridotta espressione del recettore per i glucocorticoidi a livello ippocampale, a dimostrazione delle possibili influenze epigenetiche del maltrattamento.<sup>326</sup> Probabilmente gli effetti di PTSD e depressione sui volumi ippocampali non sono ancora evidenti nei bambini perché molto gradualmente, diventando manifesti solo nei giovani adulti.<sup>320</sup> In alternativa, le ridotte dimensioni dell'ippocampo visibili I disturbi da dipendenza o i disturbi dell'umore, molto frequenti in pazienti con PTSD.<sup>327</sup> Infine, le ridotte dimensioni ippocampali potrebbero non costituire una conseguenza di uno stress precoce, bensì un fattore di rischio per lo sviluppo di PTSD cronico.<sup>297 328</sup>

#### **4.2.3 Amigdala**

L'amigdala svolge un ruolo importante nei processi emotivi, nella regolazione del comportamento, nella memoria di eventi emotivamente coinvolgenti, nel condizionamento indotto dalla paura e nella valutazione dei pericoli.<sup>329</sup> Dato che questi processi sono di estrema importanza in situazioni minacciose, ci si può attendere che differenze significative nella struttura dell'amigdala possano associarsi all'esposizione a maltrattamento in età minorile.<sup>311</sup> I nuclei amigdaloidi sono inoltre strutture cerebrali molto sensibili e parte di tale sensibilità è dovuta al *kindling*, un importante fenomeno nel quale una stimolazione intermittente produce un'alterazione crescente dell'eccitabilità neuronale e può causare anche alterazioni a lungo termine che possono avere un grave impatto sul controllo comportamentale.<sup>330</sup> Lo stress precoce altera lo sviluppo e la struttura della subunità del complesso sopra-molecolare del recettore Gaba<sub>A</sub> nell'amigdala, riducendo la densità sia dei siti centrali che legano le benzodiazepine, sia dei siti Gaba che legano ad alta affinità sul recettore. L'acido  $\gamma$ -aminobutirrico è un neurotrasmettitore inibitore cruciale nell'attenuazione dell'attività elettrica. I

polimorfismi delle subunità Gaba possono essere associati ad ansia, irritabilità neuronale e suscettibilità a episodi comiziali.<sup>331</sup>

In letteratura si trovano diversi studi su pazienti con diagnosi di PTSD e/o maltrattamento che rilevano una riduzione dei volumi dell'amigdala.<sup>306 323 332</sup> Uno studio ha riscontrato una probabile riduzione del volume dell'amigdala in pazienti maltrattati con disturbo borderline di personalità (BPD) sia con che senza una diagnosi concomitante di PTSD, suggerendo che le riduzioni di volume erano imputabili al maltrattamento o al BPD.<sup>333</sup> I dati relativi ai cambiamenti strutturali associati al maltrattamento sono però contrastanti e una meta-analisi non ha infatti riscontrato alterazioni del volume dell'amigdala in bambini con PTSD maltrattamento-correlato.<sup>334</sup>

#### ***4.2.4 Corteccia prefrontale***

La corteccia prefrontale (PFC) ha un ruolo importante in tutte le funzioni che caratterizzano il comportamento adulto maturo, tra cui sono compresi: il controllo motorio, il controllo inibitorio, l'attenzione, la memoria di lavoro, l'espressione della personalità, la regolazione delle emozioni e della motivazione, la pianificazione dei processi cognitivi complessi, la presa delle decisioni e la moderazione della condotta sociale.<sup>335 336</sup> La neocorteccia nel suo insieme matura lentamente attraverso processi ciclici di riorganizzazione.<sup>337</sup> Il ritardo della mielinizzazione della corteccia permette ai due emisferi di svilupparsi in maniera relativamente indipendente. Il linguaggio e la lateralizzazione della memoria si stabiliscono molto prima dei cinque anni di età. La specializzazione dell'emisfero destro nel riconoscimento dei visi emerge fra gli 8 e i 13 anni. La formazione della corteccia prefrontale è quella che avviene più tardi rispetto ad ogni altra regione cerebrale.<sup>297</sup> Grazie al suo sviluppo ritardato, la PFC è la regione del cervello che è più suscettibile a danni nell'infanzia e negli adolescenti, ed è quindi considerata una struttura importante per il patologico sviluppo dei bambini e degli adulti che sono stati esposti a gravi fattori di stress come il maltrattamento.<sup>311</sup> Studi recenti propongono la teoria secondo la quale lo stress precoce attiverrebbe la corteccia prefrontale e ne altererebbe lo sviluppo. Ciò può condurre ad una maturazione precoce della corteccia prefrontale, causando segni di maturazione

precoce (“bambino adultizzato”), o ad un arresto dello sviluppo di questa regione, ostacolandone la capacità di raggiungere la piena età adulta.<sup>338</sup>

I risultati dei lavori presenti in letteratura sono discordanti: alcuni studi in soggetti pediatrici maltrattati con PTSD hanno riscontrato un minor volume di corteccia prefrontale o di materia grigia o maggiori volumi di liquido cerebrospinale prefrontale, che potrebbero essere indice dell'anormale maturazione della corteccia prefrontale.<sup>300 301 302 306</sup> Una review ha però riportato sia aumenti che diminuzioni dei volumi di corteccia prefrontale in pazienti pediatrici con PTSD.<sup>308</sup> Altri studi ancora hanno riportato effetti diversificati nelle diverse regioni della corteccia prefrontale in pazienti pediatrici con PTSD<sup>339</sup>, ad esempio con un aumento della materia grigia isolato nelle regioni medio-inferiori e ventrali della PFC.<sup>340</sup> Alcuni studi hanno inoltre osservato un'attenuazione della normale asimmetria destra-sinistra nei lobi frontali di bambini esposti a trauma.<sup>332</sup> Uno studio svolto utilizzando la tensor based morphometry (TBM), ha riportato minori volumi di PFC dorsolaterale (DLPFC), di PFC mediale (mPFC) e di corteccia orbitofrontale (OFC) in bambini maltrattati fisicamente, senza PTSD e con solo una piccola percentuale di altre condizioni psichiatriche.<sup>341</sup> Anche studi svolti tramite morfometria voxel based su pazienti adulti che erano stati maltrattati da bambini hanno osservato una riduzione della materia grigia della PFC.<sup>342</sup> Studi di morfometria voxel-based dimostrerebbero inoltre che l'impatto più significativo a livello della morfologia delle strutture cerebrali, dell'esposizione a ripetuti episodi di abuso sessuale, sarebbe una riduzione del volume della sostanza grigia della corteccia visiva.<sup>297</sup> Si è inoltre ipotizzato che la sensibilità delle diverse regioni del cervello agli effetti dei diversi tipi di maltrattamento potrebbero variare nel tempo.<sup>305</sup>

#### ***4.2.5 Cervelletto***

Il cervelletto ha principalmente una funzione di coordinamento motorio; recenti ricerche suggeriscono che esso svolga però un ruolo di coordinamento anche nei processi cognitivi ed emotivi, grazie alle sue connessioni con le strutture limbiche e con l'asse HPA.<sup>343</sup>

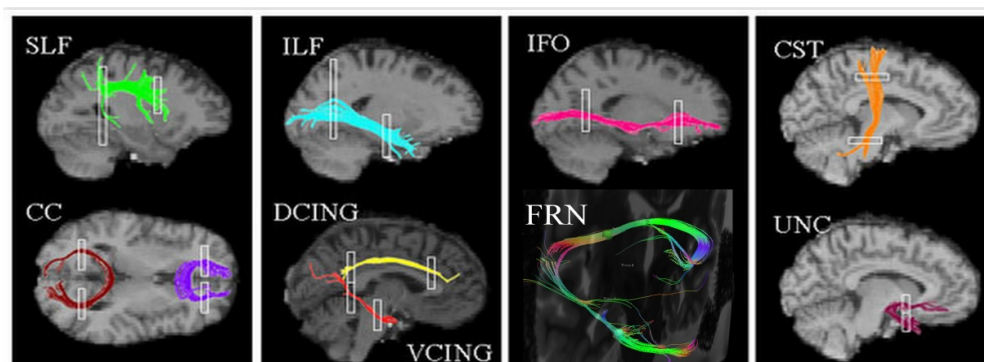
Studi strutturali hanno riscontrato una diminuzione dei volumi del cervelletto in bambini con PTSD correlato al maltrattamento<sup>344</sup> e non correlato ad esso.<sup>339</sup> Un recente studio ha riscontrato che pazienti adulti che hanno sviluppato PTSD mostrano una riduzione del volume dell'emisfero cerebellare sinistro e del verme cerebellare in confronto a controlli resilienti in grado di affrontare situazioni stressanti, che hanno sperimentato un trauma psicologico senza sviluppare PTSD.<sup>345</sup>

#### 4.2.6 Corteccia cingolata anteriore

La corteccia cingolata anteriore (*Anterior Cingulate Cortex - ACC*) è posta all'interfaccia tra il sistema limbico e la neocorteccia. Non sembrano trovarsi in letteratura casi di studi mirati ad analizzare le alterazioni della ACC in bambini maltrattati, ma ci sono evidenze di riduzioni del volume della ACC in studi su: adulti con PTSD correlato a maltrattamento infantile,<sup>346</sup> adulti con varie esperienze di abusi infantili senza PTSD o altri disturbi psichiatrici,<sup>347</sup> e in adulti con disturbo depressivo maggiore (MDD) con una storia di vari tipi di maltrattamento infantile.<sup>348</sup>

#### 4.2.7 Alterazioni di sostanza bianca

In letteratura si trovano alcuni studi di trattografia con DTI che hanno analizzato la struttura di vari fasci di fibre di sostanza bianca (Figura 13) nei soggetti esposti ad una situazione di stress.<sup>349 350</sup>



**Figura 13 – Principali fasci di fibre di alterazioni nei pazienti esposti a stress precoce. SLF, fascicolo longitudinale superiore; ILF, fascicolo longitudinale inferiore; IFO, fascicolo fronto-occipitale inferiore; CST, tratto cortico-spinale; CC, corpo calloso, con forceps minor in viola e forceps maior in rosso; DCING, fascio del cingolo dorsale; VCING, fascio del cingolo ventrale; FRN, fornice; UNC, fascicolo uncinato (modificato da Marengo et al. 2007)**



Alcuni studi riportano una riduzione dell'anisotropia frazionale nel fascicolo uncinato sinistro in bambini adottati che erano stati istituzionalizzati e che avevano avuto un trascorso caratterizzato da precoci deprivazioni socio-emotive.<sup>351</sup> Il fascicolo uncinato connette la corteccia orbito-frontale al lobo temporale anteriore e all'amigdala. Gli autori associano le alterazioni nel fascicolo uncinato sinistro a disturbi nel funzionamento comportamentale e neurocognitivo del bambino, come ad esempio deficit di memoria verbale. Ciò sembra accordarsi con studi più recenti che riscontrano una correlazione tra le alterazioni quantitative del fascicolo uncinato sinistro, misurate tramite DTI, e variabili neurocognitive, come l'intelligenza in generale, la memoria visiva e verbale e le funzioni esecutive.<sup>311</sup> **Errore. Il segnalibro non è definito.**

Un altro studio, mediante trattografia con DTI, esamina gli effetti della violenza verbale da parte dei genitori (*Parental Verbal Abuse* – PVA, una forma di abuso psico-emozionale che si delinea quando il bambino è messo in ridicolo, umiliato, disprezzato) sulle fibre della sostanza bianca di giovani adulti.<sup>220</sup> I tre principali tratti di fibre che mostrano una riduzione di anisotropia frazionaria rispetto a controlli sani non esposti a PVA sono: il fascicolo arcuato del giro temporale superiore sinistro, il fascio del cingolo in comunicazione con la parte posteriore dell'ippocampo sinistro e il corpo del fornice. Il fascicolo arcuato connette l'area di Wernicke nella giunzione temporo-parietale con l'area di Broca nel giro frontale inferiore e fornisce alla corteccia prefrontale una via per ricevere e integrare le informazioni sonore. Il fascio del cingolo collega il sistema limbico con la neocorteccia e una riduzione della sua densità è stata precedentemente osservata nei pazienti con PTSD, confermando che è una struttura suscettibile allo stress. Il fornice unisce il sistema setto-ippocampale, fornendo una via serotoninergica che dal rafe mesencefalico va all'ippocampo, e svolge un ruolo importante nella modulazione dell'ansia. Gli autori ipotizzano che le anomalie di questi tre tratti possano essere alla base di alcune delle difficoltà linguistiche e di regolazione delle emozioni riscontrate nelle vittime del maltrattamento infantile.<sup>311</sup>

Diversi studi con DTI svolti su pazienti pediatriche hanno riportato riduzioni di anisotropia frazionaria del corpo calloso, che costituisce il principale tratto di

sostanza bianca del cervello. In uno studio, in particolare, la trattografia con DTI è stata utilizzata per valutare l'integrità della sostanza bianca del corpo calloso in bambini maltrattati con PTSD, rispetto ai controlli sani. I bambini con PTSD mostrano una ridotta anisotropia frazionale nelle regioni del corpo calloso mediale e posteriore, che ricevono proiezioni interemisferiche da strutture cerebrali coinvolte in circuiti che mediano l'elaborazione di stimoli emotivi e diverse funzioni della memoria, che sono funzioni classicamente coinvolte di fronte ad eventi traumatici.<sup>352</sup>

La violenza assistita, altra una forma di maltrattamento ai minori che rientra nella più vasta diagnosi di abuso psico-emozionale, è associata ad un aumentato rischio di depressione, disturbo da stress post-traumatico e riduzione del QI. Alterazioni caratteristiche provocate dalla violenza assistita sullo sviluppo cerebrale non sono state ancora studiate in maniera approfondita. Uno studio si è avvalso della trattografia con DTI per verificare se la violenza assistita fosse associata a particolari anomalie di integrità della sostanza bianca, confrontando dei pazienti giovani adulti vittime di violenza assistita con soggetti sani. Lo studio ha riscontrato che nel gruppo clinico vi era una riduzione di anisotropia frazionaria nel fascicolo longitudinale inferiore del lobo occipitale di sinistra. Il grado di riduzione dell'anisotropia frazionaria è risultato correlabile con la durata del maltrattamento e con l'esposizione ad esso nel range di età tra i 7 e i 13 anni. Il fascicolo longitudinale inferiore collega la corteccia occipitale a quella temporale ed è il principale componente della via visivo- limbica, che media funzioni emotive, di apprendimento e di memoria rapportate alla visione. I risultati di questo studio sono coerenti con l'ipotesi che l'esposizione al maltrattamento in età pediatrica sia associata ad alterazioni nei tratti di fibre che trasmettono l'esperienza avversa alle regioni frontali, temporali e limbiche.<sup>353</sup>

Vari studi hanno dimostrato inoltre che l'esposizione ad un forte stress nei primi anni di vita (*Early Life Stress* - ELS) è associata ad una riduzione del volume di regioni cerebrali critiche per le funzioni emotive e per l'elaborazione delle informazioni e della memoria. Recenti studi di trattografia con DTI hanno, inoltre, trovato alterazioni dell'integrità microstrutturale delle vie di sostanza bianca in adulti esposti a ELS. Tuttavia, non è chiaro se queste anomalie si estendano a

bambini e adolescenti e se esse abbiano delle influenze sulle prestazioni cognitive. Uno studio che ha reclutato controlli sani, pazienti pediatriche e adulti esposti a ELS, osserva che i pazienti soggetti a ELS mostrano una minore anisotropia frazionale a livello del ginocchio del corpo calloso rispetto ai controlli, senza però riscontrare differenze nelle funzioni cognitive tra i due gruppi.<sup>354</sup>

Uno studio con DTI svolto per studiare gli effetti di traumi infantili su pazienti con Disturbo Depressivo Maggiore riporta che nei soggetti con una storia di trauma, rispetto ad un gruppo di controllo di soggetti sani, vi è un aumento dell'anisotropia frazionale nella porzione anteriore e dorsale del fascio del cingolo, mentre registra una riduzione della diffusività radiale nella sua porzione anteriore. Inoltre, nel fascicolo uncinato, nel fascicolo fronto-occipitale e nel fascio del cingolo paraippocampale l'anisotropia frazionale è maggiore nell'emisfero sinistro dei soggetti esposti a trauma infantile rispetto ai non esposti.<sup>355</sup> Uno studio di trattografia con DTI svolto su giovani adulti esposti a violenza verbale durante l'infanzia osserva che la gravità della violenza correla con un aumento nella diffusività radiale e una riduzione dell'anisotropia frazionaria del corpo calloso e della corona radiata, sembra inoltre che la violenza verbale abbia altri effetti sulla salute psichica e che possa comportare l'insorgenza di disturbi d'ansia e dell'umore, (soprattutto depressione), di disturbi dissociativi e disturbi da dipendenza di sostanze (alcol e droghe), proporzionali al grado della violenza.<sup>356</sup> Una ricerca con trattografia mediante DTI, in cui un gruppo di controlli e uno di adolescenti vittime di maltrattamento e privi di diagnosi psichiatriche sono stati seguiti per 5 anni, ha osservato che gli adolescenti maltrattati, rispetto ai controlli, presentavano: una minore anisotropia frazionale a livello del fascicolo longitudinale superiore, delle proiezioni del fascio del cingolo di destra all'ippocampo, del fascicolo fronto-occipitale inferiore e dello splenio del corpo calloso. I soggetti che hanno sviluppato un disturbo depressivo maggiore nel follow-up avevano valori di anisotropia frazionale del fascicolo longitudinale superiore e delle proiezioni ippocampali del fascio del cingolo di destra più bassi rispetto ai soggetti che non hanno sviluppato il disturbo. I soggetti che nel follow-up hanno sviluppato una dipendenza da sostanze, invece, avevano

minori valori di anisotropia frazionale nelle proiezioni ippocampali del fascio del cingolo di destra.<sup>357</sup>

In conclusione, i risultati che emergono da questi studi DTI indicano che le anomalie strutturali della sostanza bianca che si osservano nelle vittime di maltrattamento ai minori possono alterare la comunicazione tra varie aree cerebrali e possono essere associate ad alterazioni cognitive e ad un'aumentata vulnerabilità alle patologie psichiatriche. Ulteriori studi di DTI risultano però necessari per chiarire gli effetti del maltrattamento precoce sui fasci di sostanza bianca.<sup>311</sup>

### **4.3 L'impatto funzionale**

Nell'ultimo decennio, la letteratura scientifica ha dimostrato, attraverso diversi studi, che adulti sottoposti in infanzia e adolescenza a stress gravi e ripetuti, quali le situazioni di maltrattamento minorile, sono maggiormente predisposti allo sviluppo di disordini funzionali: cognitivi, affettivi, relazionali e comportamentali, intrapsichici.<sup>358</sup>

I problemi funzionali vengono distinti principalmente in disturbi di tipo internalizzante e esternalizzante. Tra i disturbi internalizzanti che ricorrono in soggetti che sono stati sottoposti a maltrattamenti in età minorile, vi sono: disturbi d'ansia, disturbi dell'umore, disturbi somatoformi, ritiro sociale, scarsa tolleranza alla frustrazione, disturbo post-traumatico da stress (PTSD), instabilità affettiva, disturbi di personalità di tipo masochistico, depressivo e dipendente, pensieri e intenzionalità suicidarie, disturbi dissociativi. Tra i disturbi esternalizzanti di questi soggetti abusati, invece, emergono: disturbo da deficit di attenzione/iperattività (ADHD), disturbo del comportamento, disturbo della condotta (CD), disturbo oppositivo-provocatorio (DOP), per quanto riguarda gli adolescenti, e ridotto controllo degli impulsi, aggressività episodica, comportamento delinquenziale, condotte autolesionistiche, disturbi da uso di sostanze, disturbi sessuali.

Ai problemi internalizzanti ed esternalizzanti si aggiungono inoltre ulteriori problematiche funzionali che riguardano: il funzionamento cognitivo (ritardo psicomotorio, ritardo cognitivo, disturbi della memoria, dell'attenzione e delle

funzioni esecutive), il pensiero (deliri e allucinazioni), la personalità (disturbo di personalità di tipo antisociale, borderline, istrionico e isterico, depressivo, masochistico, dipendente), il comportamento (disturbi del comportamento alimentare, disturbi del sonno, encopresi ed enuresi).<sup>359 360 361 362 363 364 365 366 230</sup>

Traumi occorsi precocemente nella vita di un bambino e una prolungata esposizione ad un eccesso di glucocorticoidi, hanno dimostrato di avere effetti negativi sulla sua salute mentale nel lungo termine.<sup>367</sup> Tuttavia, i meccanismi neurobiologici alla base di tale vulnerabilità rimangono ad oggi poco conosciuti, nonostante siano stati dimostrati alcuni dei fattori di rischio genetici per lo sviluppo di psicopatologie indotte dal maltrattamento infantile.<sup>368 369 370</sup> Per esempio, gli studi di letteratura attestano che le famiglie di abusanti e di abusati presentano, con maggiore frequenza rispetto alla popolazione generale, i fattori di rischio genetici per lo sviluppo in età adulta di disturbi dell'umore o di condotte maltrattanti.<sup>371</sup> La maggior parte degli studi sullo stress e sul maltrattamento finora effettuati misura gli esiti sull'individuo nel lungo termine, ovvero su popolazioni adulte che hanno subito maltrattamenti in età evolutiva.

Sono molteplici le compromissioni che possono insorgere già in età pediatrica in seguito all'esposizione del bambino o dell'adolescente alle diverse forme di maltrattamento. I possibili *outcome* sono eterogenei e dipendono da una serie di fattori, tra cui: la tipologia di maltrattamento (maltrattamento fisico, abuso sessuale, abuso psico-emozionale, trascuratezza e altre patologie delle cure); la reiterazione e quindi la cronicità; le capacità di resilienza dell'individuo, tra fattori di rischio e fattori protettivi; la precocità della diagnosi ed un'eventuale presa in carico.

#### ***4.3.1 Conseguenze a breve, medio e lungo termine***

Le conseguenze del maltrattamento possono differenziarsi tra quelle a breve e medio e a lungo termine. In generale, le conseguenze a breve e medio termine di esperienze stressanti traumatiche comprendono principalmente: incubi notturni; flashback; evitamento di cose che ricordano il trauma; ritiro sociale; riduzione dell'interesse per le proprie attività; intorpidimento delle emozioni; irritabilità; ansia; disturbi della concentrazione; disturbi del sonno; ipervigilanza e aumentato

arousal.

In condizioni acute, il bambino può presentare quadri affettivi reattivi piuttosto allarmanti che possono confluire in una diagnosi di Disturbo Acuto da Stress (ASD). I criteri diagnostici per il Disturbo Acuto da Stress secondo il DSM-IV comprendono il fatto che la persona sia stata “esposta ad un evento traumatico in cui erano presenti entrambi i seguenti elementi: 1) la persona ha vissuto, ha assistito o si è confrontata con un evento o con eventi che hanno comportato la morte, o una minaccia per la vita, o una grave lesione, o una minaccia all’integrità fisica, propria o di altri; 2) la risposta della persona comprende paura intensa, sentimenti di impotenza, o di orrore, che nei bambini può manifestarsi con comportamento agitato o disorganizzato. Per formulare tale diagnosi, inoltre, è necessario che durante o dopo l’esperienza dell’evento stressante, l’individuo presenti tre (o più) sintomi dissociativi, tra cui: la sensazione soggettiva di insensibilità, distacco o assenza di reattività emozionale; la riduzione della consapevolezza dell’ambiente circostante (per es., rimanere storditi); derealizzazione; depersonalizzazione; amnesia dissociativa (cioè incapacità di ricordare qualche aspetto importante del trauma). Il marcato evitamento degli stimoli che evocano ricordi del trauma (per es., pensieri, sensazioni, conversazioni, attività, luoghi, persone) e correlati marcati sintomi di ansia o di aumentato arousal (per es., difficoltà a dormire, irritabilità, scarsa capacità di concentrazione, ipervigilanza, risposte di allarme esagerate, irrequietezza motoria) costituiscono parte integrante e fondante la diagnosi. Chiaramente il disturbo, come tutte le diagnosi psichiatriche del DSM-IV, causa disagio clinicamente significativo o menomazione del funzionamento sociale, lavorativo o di altre aree importanti, oppure compromette la capacità dell’individuo di eseguire compiti fondamentali, come ottenere l’assistenza necessaria o mobilitare le risorse personali riferendo ai familiari l’esperienza traumatica. Criterio necessario per la diagnosi di ASD, inoltre, è la durata dei sintomi che devono durare da un minimo 2 giorni a un massimo di 4 settimane e che si manifesta entro 4 settimane dall’evento traumatico occorso.

Sono quindi numerosi i criteri necessari a formulare la diagnosi di ASD, che non sempre viene pertanto diagnosticata, nonostante siano presenti sintomi di stress acuto. Al di là di tale diagnosi psichiatrica, infatti, il bambino maltrattato in fase

acuta può presentarsi in uno stato di paura, terrore, impotenza e ritiro ma anche di rabbia e aggressività. La persona che ha perpetrato il maltrattamento, spesso una figura di riferimento (genitori innanzitutto, altri familiari o altre figure con ruolo educativo nei confronti del bambino) diventa inevitabilmente minacciosa nella sua mente, nonostante rimanga al tempo stesso una persona cui il bambino è legato. Tale ambivalenza comporta un carico traumatico terribile per il bambino, che non capisce il senso dell'agito subito cui può rispondere con difese di tipo dissociativo o di negazione e rimozione. Alle volte, l'impotenza che il bambino percepisce è così difficile da tollerare, poiché fa sentire il bambino in costante pericolo, che egli passa mentalmente da una condizione di totale passività ad una di attività, in cui fantastica di essere responsabile di quanto accaduto, dando avvio a forti sentimenti di colpa che possono sfociare in sentimenti e pensieri depressivi, nonché in atti autolesionistici. In altre situazioni, invece, il pericolo avvertito fa sì che il bambino si inibisca nei suoi comportamenti e operi un ritiro dal mondo esterno, come tentativo estremo di difesa dal maltrattamento subito e potenzialmente reiterabile. In ogni caso lo stato di ansia è spesso acuto e accompagnato da sintomi simili a quelli dell'ASD.

Se il quadro di ADS perdura per più di 4 settimane, invece, si rende necessaria una diagnosi di Disturbo Post-traumatico da Stress (PTSD) che oltre ad alcuni criteri comuni al ADS, ne prevede altri di peculiari. Il PTSD può essere acuto (se la durata dei sintomi è inferiore a 3 mesi)), cronico (se la durata dei sintomi è 3 mesi o più) oppure a esordio ritardato (se l'esordio dei sintomi avviene almeno 6 mesi dopo l'evento stressante). E' certa la relazione tra PTSD e le forme di maltrattamento infantile, ma la diagnosi di PTSD come schematizzata da un punto di vista psichiatrico, è appropriata per gli adulti mentre i bambini sviluppano reazioni più complesse non totalmente comprese in questa categoria diagnostica.

Le conseguenze funzionali a lungo termine dei maltrattamenti infantili, invece, sono inevitabilmente diverse da quelle appena descritte, anche se persistono delle condizioni acute in un quadro di cronicità. In generale, le funzioni compromesse possono impattare diverse aree del funzionamento: intellettuale, affettiva, relazionale e comportamentale, intrapsichica. Andremo ora a vedere le principali compromissioni che la letteratura descrive in relazione a queste diverse aree,

consapevoli del fatto che sono ancora pochissimi gli studi che analizzano l'impatto funzionale delle diverse forme di maltrattamento su popolazioni pediatriche. Per questo motivo, sia per lo studio dell'area intellettiva che per quello delle altre aree funzionali in seguito esposte, ci rifaremo alla letteratura più generale sullo stress, di cui il maltrattamento rappresenta una possibile manifestazione, o a studi su popolazione adulta che hanno subito maltrattamenti in età evolutiva. Non tutti questi studi hanno però tenuto conto di eventuali comorbidità, come disturbi psichiatrici, che avrebbero potuto influire sui risultati. Un filone molto interessante, che negli ultimi anni si è incrementato con differenti studi a livello internazionale, riguarda lo studio di bambini istituzionalizzati, che sono spesso sottoposti a condizioni estreme di neglect e che sono poi stati adottati ed inseriti in contesti adeguati e riparatori. Tali studi contribuiranno ad aiutarci a descrivere gli outcome funzionali ad oggi conosciuti in tema di maltrattamento minorile.

#### ***4.3.2 Area intellettiva***

In generale, il funzionamento intellettivo di un bambino esposto a situazioni di stress acuto e/o cronico può presentare una serie variegata di problematiche, tra cui: ritardo dello sviluppo cognitivo, pseudodisabilità intellettiva, deficit attentivi e mnemonici, disturbi dell'apprendimento, deficit nelle funzioni esecutive, ritardo del linguaggio. Spesso tali compromissioni si evidenziano a partire dal rendimento scolastico del bambino, che inizia ad avere delle cadute di fronte a materie e compiti specifici. L'esposizione a forti stress nei primi anni di vita è stata associata ad una serie di problemi cognitivi come il basso rendimento scolastico e un basso quoziente intellettivo (QI), così come a specifici deficit di linguaggio, memoria, attenzione e funzioni esecutive.<sup>372</sup>

##### **4.3.2.1 QI e Ritardo Mentale**

L'intelligenza può essere definita in generale come l'abilità di apprendere dall'esperienza, pensare in termini astratti e relazionarsi in modo efficace al proprio ambiente<sup>373</sup>. Il Quoziente di Intelligenza (QI) è un punteggio, ottenuto tramite un test standardizzato, che definisce lo sviluppo intellettivo dell'individuo,



tramite la definizione del rapporto tra l'età mentale e l'età cronologica. Un ridotto rendimento scolastico connesso ad un QI basso è stato osservato in adulti che hanno avuto esperienze di neglect, di istituzionalizzazione precoce e in adulti con una storia di abuso sessuale infantile o con diagnosi miste di maltrattamento.<sup>374 375</sup>

<sup>376 377</sup> In una casistica di bambini orfani romeni con deficit di attenzione e iperattività, che avevano sofferto di grave neglect e di una precoce istituzionalizzazione, sono stati individuati maggiori deficit di inibizione e di IQ, rispetto a casi standard di ADHD e a controlli sani.<sup>378</sup>

Il fatto che i bambini maltrattati abbiano un QI minore rispetto ai controlli sani è di riscontro comune nella letteratura, ed è ricorso in casi di abuso fisico, di abuso sessuale, di neglect e di bambini istituzionalizzati. In molti di questi studi il QI è risultato essere correlato alla gravità del maltrattamento.<sup>379 380 381 382 383</sup> Tuttavia, la maggior parte di questi studi non ha considerato la presenza di comorbidità come il PTSD o altre diagnosi psichiatriche che può contribuire ad un peggioramento delle capacità intellettive del soggetto.

Infatti, gli studi su adulti che sono stati maltrattati da bambini, attualmente disponibili in letteratura, non segnalano differenze di QI rispetto ai controlli sani, suggerendo che, se il QI è associato esclusivamente al maltrattamento, può normalizzarsi con l'età.<sup>384 385</sup> Tale normalizzazione è spiegata dal fenomeno delle pseudodisabilità intellettive, le quali consistono in cadute cognitive transitorie, dovute principalmente a condizioni di stress acuto e/o cronico che compromettono le capacità intellettive del bambino o dell'adolescente. L'apporto traumatico con forte impatto sul piano psichico e affettivo va ad inficiare le capacità cognitive del bambino, che non ha la possibilità di usufruire appieno delle sue capacità intellettive che risultano pertanto provvisoriamente compromesse. Tale compromissione può durare pochi mesi nelle condizioni di stress acuto o anni in quelle di stress cronico, senza alterare in modo permanente il QI del bambino, ma senz'altro limitandone lo sviluppo potenziale.

Altri studi su bambini istituzionalizzati, sottoposti a condizioni croniche di neglect o trascuratezza grave, confermano invece il gravoso impatto che tale forma di maltrattamento può avere anche a livello intellettivo. La scarsa crescita, il ritardo dello sviluppo psicomotorio, l'irritabilità, le turbe del sonno e dell'alimentazione,

le difficoltà di relazione, lo scarso attaccamento, le infezioni ricorrenti, frequenti e persistenti del lattante gravemente trascurato ci danno il quadro di riferimento a partire dal quale poi andrà a svilupparsi la compromissione intellettiva delle fasi evolutive successive. In età prescolare il bambino inizia a manifestare sintomi di ritardo intellettivo, attraverso il ritardo psicomotorio, le difficoltà del linguaggio, l'immaturità socio-affettiva, la ricerca del contatto fisico, con scarsa capacità di relazionarsi all'Altro, modalità aggressive, iperattive, oppositive. In età scolare, le compromissioni intellettive risulteranno gradualmente più evidenti con l'emergere di difficoltà di apprendimento e di inserimento scolastico, qualora il bambino non sia inserito ancora in una condizione di trascuratezza che non gli garantisce certo il diritto allo studio. L'area intellettiva, compromessa dal grave stato di trascuratezza globale, presenterà cadute peculiari, a seconda dello specifico caso. Solitamente condizioni gravi di neglect comportano quadri di ritardo mentale in cui il deficit non è solo intellettivo ma anche personale, relazionale, sociale. Il ritardo mentale è definito come un "funzionamento intellettivo significativamente inferiore alla media" associato a "significativa compromissione del funzionamento adattativo" con esordio prima dei 18 anni. La compromissione funzionale, che riguarda diverse aree come la comunicazione, la cura della persona, la vita familiare, le capacità personali e interpersonali, l'autodeterminazione, le capacità di funzionamento scolastico ecc., si accompagna ad un funzionamento intellettivo di circa 70 o inferiore. A seconda del livello di QI si differenziano quattro tipi di ritardo mentale: RM lieve, con QI da 50 a 70; RM moderato, con QI da 35 a 55; RM grave con QI da 20 a 40; RM gravissimo con QI inferiore a 20. La grave e persistente negligenza nei confronti del bambino o l'incapacità di proteggerlo dall'esposizione ai pericoli, con gravissime ripercussioni anche sullo sviluppo cerebrale dello stesso comportano inevitabilmente alcuni quadri di RM, di diversa entità.<sup>386 387 388 389</sup>

Oltre all'intelligenza intesa come la capacità globale dell'individuo di adattarsi al suo ambiente in modo funzionale, vi sono competenze cognitive specifiche che contribuiscono all'abilità dello stesso di eseguire compiti più specifici. Tali competenze, che riguardano la capacità di assimilare conoscenze, di ricordare eventi recenti o remoti, di ragionare in modo logico, di orientarsi nell'ambiente, di

manipolare i concetti... sono solitamente intrecciate e difficilmente distinguibili l'una dall'altra nell'adattamento dell'individuo all'ambiente, ma è possibile studiarle singolarmente attraverso la valutazione di compiti specifici che le vanno ad attivare individualmente, essendo le stesse determinate dall'attivazione di differenti aree cerebrali. Alcune di queste funzioni, come la memoria e l'attenzione sembrano essere particolarmente colpite da esperienze stressanti precoci, poiché si sviluppano in seguito ad un'attivazione progressivamente crescente di circuiti nervosi fronto-parietali e fronto-latero-striatali, i quali sono probabilmente influenzati dall'attivazione ripetuta della risposta allo stress.<sup>390 391</sup>

#### 4.3.2.2 Disturbi della memoria

Come abbiamo già ampiamente argomentato nel primo capitolo, lo stress è una risposta adattiva alle esigenze dell'ambiente, essenziale per la sopravvivenza. L'esposizione a stress innesca l'attivazione dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene (HPA) e il conseguente rilascio di glucocorticoidi dalle ghiandole surrenali. La stimolazione di questa via determina l'attivazione di specifiche regioni cerebrali, tra cui ippocampo, amigdala e corteccia prefrontale, che sono ricche di recettori per i glucocorticoidi. Recenti scoperte indicano che l'attivazione di questi recettori media la regolazione del *brain-derived neurotrophic factor* (BDNF), che è fondamentale per la plasticità neurale, in quanto promuove la crescita cellulare e i cambiamenti sinaptici. Quindi l'attivazione di queste vie indotta dallo stress porta a cambiamenti di plasticità neuronale, che determinano la formazione di ricordi duraturi. Di conseguenza, gli organismi possono imparare da eventi stressanti e rispondere in maniera analoga a successive simili richieste, al fine di favorire l'adattamento. Mentre un livello di stress ottimale porta alla valorizzazione delle prestazioni della memoria, l'esposizione ad eventi eccessivamente stressanti, traumatici o cronici, è un fattore di rischio per le psicopatologie che sono associate a disturbi della memoria e deficit cognitivi, come ad esempio il disturbo post traumatico da stress (PTSD).<sup>392</sup>

Danni significativi della memoria a breve e a lungo termine (MBT e MLT) sono stati osservati in bambini sottoposti a eventi traumatici acuti come i terremoti o le calamità naturali e gli incidenti automobilistici, e cronici come

l'istituzionalizzazione e le forme severe di maltrattamento.<sup>393 394 395 396</sup> Simili riscontri si sono avuti anche in adulti vittime delle varie forme di maltrattamento tra cui il neglect, l'abuso sessuale, il maltrattamento fisico ed emozionale.<sup>376 397</sup> La maggior parte di questi studi però hanno per lo più testato soggetti con PTSD correlato al maltrattamento, o con altre comorbidità psichiatriche. Alcuni studi hanno invece confrontato direttamente i soggetti maltrattati con e senza PTSD, e hanno osservato che solo i soggetti maltrattati che avevano sviluppato PTSD avevano avuto dei deficit di memoria verbale, suggerendo che probabilmente i deficit di memoria verbale sono specificamente correlati al PTSD e non al maltrattamento di per sé.<sup>394 395 397</sup>

I deficit di memoria e apprendimento sono probabilmente imputabili alle alterazioni che, a seguito dello stress, si verificano nello sviluppo dei circuiti nervosi di ippocampo, amigdala e della corteccia prefrontale dorsolaterale.<sup>398</sup> Si sono riscontrate alterazioni della memoria di lavoro in adulti vittime di abuso emozionale, trascuratezza o maltrattamento fisico<sup>376</sup> e in bambini vittime di abuso sessuale, violenza domestica e istituzionalizzati.<sup>399 396 383</sup>

#### 4.3.2.3 Disturbi dell'attenzione

L'attenzione, un processo cognitivo che permette di selezionare stimoli ambientali, ignorandone altri, è una funzione fondamentale nella risposta allo stress. La capacità attentiva del soggetto di fronte a stimoli avversi e potenzialmente pericolosi gli permette di recepire le informazioni necessarie ad attivare una risposta adattiva ai fini della sopravvivenza. Una ripetuta o cronica attivazione della risposta allo stress può però comportare a livello neurobiologico prima e comportamentale poi, un esaurimento delle capacità dell'individuo di attivare prontamente tale capacità cognitiva. Nella risposta allo stress, che costituisce un rischio all'integrità dell'organismo, viene attivata l'attenzione selettiva, che permette al soggetto di focalizzarsi su alcuni stimoli ambientali tralasciandone altri. La qualità multimodale dell'attenzione, che permette di muoversi da uno stimolo percettivo all'altro (ad esempio, da stimoli visivi a stimoli uditivi) risulta fondamentale nell'attivazione di una risposta che tenga conto dell'ambiente nel suo insieme.

Attualmente non vi sono studi consistenti sulla compromissione delle capacità attentive di soggetti sottoposti a maltrattamenti in età pediatrica. Alcuni studi individuano deficit di attenzione uditiva e visiva in casistiche di bambini vittime di neglect, abuso fisico o sessuale e istituzionalizzati.<sup>378 380 388 394</sup> Per il resto, la letteratura si focalizza principalmente sull'associazione tra Disturbo da deficit di attenzione/iperattività (ADHD) e stress subiti in età precoce. I numerosi studi sull'argomento, dimostrano come l'ADHD sia spesso associata ad esperienze precoci avverse, che confermano quindi un impatto sulla funzionalità attentiva del soggetto, oltre che sull'iperattività comportamentale.<sup>400 401 402 403</sup> Affronteremo tale disturbo nella descrizione dell'area relazionale e comportamentale del soggetto.

### ***4.3.3 Area affettiva***

Sono numerosi gli studi che testimoniano che eventi avversi precoci determinano un impatto gravoso sul funzionamento affettivo dell'individuo, nel breve e nel lungo termine. L'impatto di esperienze precoci di maltrattamento sull'area di funzionamento affettivo del bambino sembra comportare sintomi di natura principalmente internalizzante, quali l'ansia, la depressione, il ritiro, l'inibizione, l'alessitimia, la somatizzazione.<sup>404 405 406</sup> Alcuni studi attestano la comorbidità tra diagnosi psichiatriche ancora più infauste, come la schizofrenia, ed esperienze precoci di maltrattamento.<sup>407</sup>

La compromissione nello sviluppo dei meccanismi di regolazione affettiva determinata da esperienze di maltrattamento intra- ed extra-familiare sembra essere alla base della possibile insorgenza di questi disturbi, che hanno ripercussioni sul funzionamento relazionale, familiare, scolastico, lavorativo, compromettendo in modo significativo la qualità di vita del soggetto affetto.<sup>408</sup>

In bambini molto piccoli vittime di maltrattamento si sono riscontrate difficoltà nell'identificazione e nella discriminazione delle espressioni facciali, questi risultati però non sono stati confermati in studi su bambini più grandi,<sup>409 410 411</sup> a suggerimento del fatto che probabilmente le difficoltà nel riconoscimento delle emozioni nei casi di maltrattamento potrebbero normalizzarsi con l'età. È inoltre verosimile che diverse forme di maltrattamento abbiano conseguenze diverse sulla

capacità di discriminare le emozioni. Ad esempio maggiori difficoltà nel riconoscere le emozioni potrebbero essere riscontrate in bambini vittime di neglect o istituzionalizzati.<sup>409 412</sup> Al contrario, bambini vittime di abuso fisico, possono essere maggiormente capaci di identificare e di reagire a specifiche emozioni negative, come la rabbia, la paura e il dolore, in quanto il loro vissuto è fortemente segnato da queste emozioni.<sup>410 413</sup> In bambini esposti precocemente a gravi esperienze stressanti si sono osservate anche delle difficoltà nella regolazione delle emozioni, che potrebbero rappresentare un fattore di rischio per il successivo sviluppo di psicopatologie.<sup>414 415</sup> I deficit di riconoscimento e regolazione delle emozioni sono probabilmente correlati ad alterazioni dello sviluppo dei circuiti nervosi limbici e frontali implicati nella regolazione delle emozioni, oltre che di amigdala, corteccia cingolata anteriore (ACC), corteccia prefrontale orbitale e ventromediale, insula, striato ventrale e del cervelletto.<sup>416</sup>

#### 4.3.3.1 Disturbi dell'umore

Un gran numero di osservazioni cliniche ha suggerito che lo stress può agire come un fattore precipitante nell'insorgenza della Depressione maggiore, che è il disturbo dell'umore più frequentemente associato ad esperienze traumatiche in età evolutiva.<sup>417 418 419</sup> La fisiopatologia della depressione e la neurobiologia dello stress sono legate dalla loro comune associazione con l'asse ipotalamo-ipofisi-surrene (HPA) e, in particolare, dalla loro comune associazione con i sistemi neuronali contenenti serotonina e noradrenalina.<sup>420</sup> Negli animali, diversi studi hanno dimostrato che i deficit comportamentali e le aberrazioni nel sistema HPA indotti dall'esposizione ad uno stress cronico incontrollabile e imprevedibile, possono regredire in seguito a trattamenti con antidepressivi.<sup>421</sup> Questi studi hanno inoltre dimostrato che i ratti esposti a un paradigma di stress cronico imprevedibile, esibivano un *feedback* dell'asse HPA attenuato e un'anormale espressione genica. Infatti, cambiamenti comportamentali associati allo stress sono stati osservati insieme a livelli elevati di corticosterone e a una riduzione dei livelli del recettore dei glucocorticoidi (GR) nell'ippocampo e in altre regioni cerebrali. Questa down-regolazione del recettore GR si assocerebbe ad un'aumentata secrezione di CRH in molte aree del cervello, il che darebbe in parte

conto dei sintomi depressivi.<sup>422</sup> Studi su animali hanno inoltre dimostrato che la delezione del recettore per i glucocorticoidi a livello del prosencefalo attenua i cambiamenti di comportamento e la responsività agli antidepressivi che avvengono durante lo stress cronico.<sup>367</sup>

Per quanto riguarda gli studi sul maltrattamento, la maggior parte di essi ha individuato nelle esperienze infantili avverse un fattore di rischio importante per lo sviluppo della patologia depressiva. Nella raccolta anamnestica di soggetti con depressione maggiore, infatti, ricorrono esperienze di maltrattamento infantile, con particolare rilievo per quanto riguarda le forme specifiche di trascuratezza di tipo emozionale, abuso psico-emozionale e abuso sessuale.<sup>423 424 425</sup> Rispetto agli altri disturbi dell'umore, oltre alla depressione, la letteratura non vi si è ancora dedicata, se non in modo generico, ovvero nell'individuare meccanismi di disregolazione affettiva che sarebbero comuni in adulti con esperienze precoci di maltrattamento.<sup>426</sup> Non sono presenti studi che valutino lo stato di salute psichica del bambino vittima di maltrattamento, né per quanto riguarda i disturbi dell'umore, che per altri aspetti del funzionamento psicologico del soggetto.

Quando parliamo di depressione, non possiamo certo non tenere a mente il rischio maggiore che esse comporta, ovvero l'ideazione e l'intenzionalità suicidaria. Numerosi studi di letteratura testimoniano l'elevata correlazione tra ideazione e agiti suicidari in soggetti vittime di maltrattamento in età minorile.<sup>427 428</sup>

#### 4.3.3.2 Disturbi d'ansia

Esperienze di maltrattamento nell'età dello sviluppo comportano spesso sentimenti di incertezza, insicurezza personale, dubbio, che possono confluire e strutturarsi in disturbi d'ansia veri e propri. Tali sintomi possono far parte di un più strutturato disturbo psichiatrico come il PTSD, che però non sempre viene determinato da questo tipo di esperienze, che possono comportare effetti meno evidenti.

La letteratura su stress e disturbi d'ansia, si è focalizzata principalmente proprio sui disturbi post-traumatico da stress e sul disturbo acuto da stress, già descritti in precedenza.<sup>429 430</sup> Per quanto riguarda le conseguenze nel lungo termine di esperienze precoci di maltrattamento, gli studi attualmente disponibili riguardano

ancora pazienti psichiatrici, in questo caso con disturbi d'ansia, che hanno avuto  
hanno vissuto gravi esperienze stressanti prima dell'insorgenza del disturbo.  
L'incidenza dei disturbi d'ansia, nelle loro diverse tipologie sembra riguardare  
alcune sottocategorie diagnostiche, oltre a PTSD e ASD: Disturbo d'ansia  
generalizzato (DAG), Disturbo Ossessivo-Compulsivo (DOC) e Fobia sociale.<sup>431</sup>  
432 433

In generale gli studi su disturbi d'ansia e esperienze di maltrattamento in età  
minorile dimostrano la mediazione di ulteriori fattori di rischio, nel determinare o  
meno l'insorgenza del quadro psichiatrico.<sup>434</sup> In effetti, le esperienze di  
maltrattamento infantile sono spesso correlate ad una serie di ulteriori fattori di  
rischio, per cui risulta difficile capire il peso di una variabile specifica  
nell'insorgenza della sindrome ansiosa in epoca adulta.

#### ***4.3.4 Area relazionale e comportamentale***

Per quanto concerne l'area relazionale e comportamentale, in generale, la  
mancanza di fiducia in sé e nell'altro, la difficoltà di modulazione sé-Altro, gli  
atteggiamenti di ritiro o, all'opposto, i comportamenti aggressivi e delinquenti  
sembrano costituire gli outcome principali di esperienze di maltrattamento subite  
in età precoce. Consistendo nella maggior parte dei casi in disturbi  
dell'attaccamento, il maltrattamento si ripercuote sull'identità, sulla percezione di  
sé, degli altri e del mondo, andando ad inficiare in modo correlato sia l'area  
relazionale che l'area intrapsichica dell'individuo.<sup>435</sup>

Oltre che essere subito, il maltrattamento che avviene in una fase così delicata  
come quella dello sviluppo, è appreso nei nuovi stili e modelli identitari e  
relazionali interiorizzati dal soggetto, col rischio di una reiterazione delle relazioni  
maltrattanti in età adulta da parte dell'individuo maltrattato. Il bambino o  
l'adolescente maltrattato, può infatti ripetere la violenza subita o agendola su altri  
o ricercando altri che l'agiscano nuovamente su di lui. Una storia di  
maltrattamento minorile costituisce, infatti, uno dei principali fattori di rischio nei  
genitori di bambini maltrattati; il maltrattamento tende pertanto a reiterarsi non  
solo nelle relazioni del soggetto ma anche nelle relazioni delle generazioni future,



alimentato da una trasmissione transgenerazionale sempre più difficilmente arrestabile.

Tra i problemi principali riscontrabili nell'area relazionale di bambini e adolescenti vittime di maltrattamento vi sono problemi di tipo esternalizzante, quali i comportamenti aggressivi, la trasgressione delle regole e l'iperattività. Tali problematiche possono confluire nell'insorgenza di disturbi neuropsichiatrici come i disturbi da deficit di attenzione e iperattività (ADHD) e i disturbi della condotta (DC). Gli abusi sessuali, inoltre, possono comportare l'insorgenza di comportamenti sessualizzati già nel bambino o nell'adolescente, i quali costituiscono gli indicatori più specifici di tale forma di abuso.

#### 4.3.4.1 Disturbo da deficit di attenzione/iperattività (ADHD)

L'ADHD è un quadro persistente di inattenzione e/o iperattività più frequente e più gravi di quanto sia tipicamente presente nei bambini a livelli simili di sviluppo. Si tratta di un disturbo comune che negli ultimi anni ha attirato moltissimo interesse non solo in ambito clinico ma anche in ambito di ricerca. La compromissione delle prestazioni scolastiche causate dalla scarsa capacità attentiva del soggetto, che deve manifestarsi prima dei 7 anni di età, e l'inadeguatezza comportamentale dettata da comportamenti iperattivi e impulsivi rende tale disturbo facilmente diagnosticabile, alle volte forse eccessivamente diagnosticato.

La comorbidità dell'ADHD con una serie di altri problemi neuropsichiatrici, tra cui l'abuso di sostanze, il rischio suicidario, i disturbi della condotta, fanno sì che non sia facile individuare associazioni significative tra ADHD e maltrattamento minorile.<sup>436</sup> Alcuni studi hanno evidenziato un potenziale rischio per soggetti affetti da ADHD di subire maltrattamenti, a causa dell'elevato carico stressante che può comportare la sintomatologia di tale disturbo, soprattutto nei suoi aspetti di iperattività. I risultati dello studio hanno infatti dimostrato che esperienze passate di neglect e abuso psico-emozionale sono significativamente più comuni in soggetti con ADHD che in soggetti sani.<sup>437</sup> Rimane da studiare però il rapporto causa-effetto di queste due diagnosi, per meglio comprenderne l'associazione reciproca.

#### 4.3.4.2 Disturbo della Condotta (DC)

Il DC consiste in una modalità di comportamento ripetitiva ed persistente in cui i diritti fondamentali degli altri o le principali norme o regole societarie appropriate per l'età vengono violati. Aggressioni a persone o animali, distruzione della proprietà, frode e furto, gravi violazioni di regole, costituiscono comportamenti problematici tipici di tale diagnosi. L'esordio può avvenire prima o dopo I 10 anni di età e può sfociare in disturbo antisociale di personalità in epoca adulta. **Errore. Il segnalibro non è definito.**

In letteratura non sono presenti studi specifici sulla possibile correlazione tra le diagnosi di DC e di maltrattamento minorile, nonostante spesso uno degli outcome osservati in ambito clinico di bambini sottoposti a maltrattamento fisico, sia proprio un disordine degli impulsi e della condotta.<sup>438</sup> La letteratura individua una più generica correlazione tra deficit di autocontrollo e adulti con pregressa storia di maltrattamenti, in adolescenti esposti precocemente a gravi esperienze stressanti, in bambini vittime di maltrattamento o istituzionalizzati.<sup>383 399 375 439</sup>

#### 4.3.4.3 Comportamenti sessualizzati

I comportamenti sessualizzati costituiscono gli indicatori più specifici di abuso sessuale, anche se non sono condizione necessaria per la loro diagnosi, dal momento che solo il 40% dei soggetti abusati li mette in atto. Tali comportamenti, inoltre, vanno attentamente osservati e ben differenziati dai comportamenti sessuali propri dell'età del bambino. Tra i comportamenti più significativi di abuso sessuale descritti in letteratura, troviamo: mimare contatti oro genitali (chiedere di leccare o di essere leccati); chiedere agli adulti di coinvolgersi in rapporti sessuali; masturbandosi con oggetti procurandosi dolore; inserire oggetti in vagina o nell'ano. Altri comportamenti allarmanti, che possono essere causati sia da un'esperienza diretta sia da un'esposizione, sono: imitare il coito; emettere suoni solitamente collegati all'atto sessuale; baciare alla "francese" (con penetrazione della lingua); spogliare altre persone (strofinare il corpo contro altre persone); chiedere insistentemente di vedere in televisione programmi esplicitamente sessuali.<sup>440</sup> La sessualizzazione traumatica presente come conseguenza di alcuni casi di abuso sessuale è determinata dal carattere coercitivo

e violento proprio dell'abuso ed induce nel bambino atteggiamenti e comportamenti compulsivi che rivelano conoscenze ed interessi sessuali inappropriati all'età tra cui emergono la masturbazione compulsiva e l'aggressività sessualizzata.<sup>441</sup>

In generale, le condotte sessuali patologiche sono effetto di un'erotizzazione precoce. Se l'adulto ha perpetrato l'abuso con una modalità violenta, il bambino sarà spaventato; se, invece, l'adulto ha sedotto il bambino e ha perpetrato l'abuso in modo non violento, ed il bambino ha sentito piacere ed eccitazione utilizzerà i comportamenti sessuali con diverse finalità: 1) comunicativa: scambia attenzione, riconoscimento e affetto con attenzione sessuale, oppure evita le punizioni con attenzioni sessuali; 2) calmante: apprende che il sesso può modulare l'ansia, i vissuti depressivi, il senso di solitudine e preserva un senso di integrità contro vissuti di disintegrazione o frammentazione; 3) difensiva: attraverso l'identificazione con l'aggressore il bambino assume un comportamento attivo nei confronti dell'Altro per non sentirsi troppo impotente e passivizzato.<sup>442</sup>

#### ***4.3.5 Area intrapsichica***

Lo sviluppo del bambino segue un andamento abbastanza prevedibile e organizzato, che procede verso l'acquisizione di competenze progressivamente sempre più evolute e complesse. Eventi come esperienze di maltrattamento infantile possono determinare una profonda distorsione dell'organizzazione evolutiva, sotto molteplici aspetti. La situazione di abuso, soprattutto nella forma intra-familiare, determina una distorsione nella costituzione di un sistema di attaccamento sicuro, inducendo un'alterazione nel processo di acquisizione della funzione riflessiva, dei meccanismi di interpretazione interpersonale e del senso del Sé.<sup>443</sup>

Le ripercussioni di esperienze traumatiche quali il maltrattamento in età minorile, comportano quindi dei danni molto severi sul piano intrapsichico. La mancanza di senso d'integrità, la costruzione di un falso Sé, la bassa autostima, la sensazione penosa di incapacità e di inadeguatezza, la vulnerabilità narcisistica, una percezione corporea distorta, il senso di incapacità e inferiorità, costituiscono solo alcune delle possibili conseguenze in quest'area di funzionamento del soggetto

maltrattato.<sup>444 445</sup> Il maltrattamento minorile, alterando il percorso evolutivo di crescita e maturazione del bambino, può infatti esitare in svariate sequele psicopatologiche come disturbi identitari, di relazione e disturbi psichiatrici mediati da un inadeguato utilizzo dei meccanismi di difesa, che sottendono la capacità di rapportarsi con gli altri e con le proprie rappresentazioni del Sé.

Attualmente però non sono disponibili studi in letteratura scientifica che valutino adeguatamente quest'area nei bambini e negli adolescenti vittime di maltrattamento, attraverso la definizione di: funzionamento dell'Io, relazione con la realtà, stili difensivi, Sé. Sono queste le variabili intrapsichiche che permettono di formulare una diagnosi psicodinamica del soggetto, di coglierne il suo livello di funzionamento (nevrotico, borderline, psicotico) e la sua organizzazione caratteriale (paranoide, schizoide, schizotipico, antisociale, borderline, istrionico, narcisistico, ossessivo-compulsivo, evitante, dipendente). Sono questi stessi elementi, inoltre, che permettono di fare diagnosi di disturbo di personalità, che rappresenta senz'altro un rischio evolutivo a lungo termine dei pazienti pediatrici vittime di maltrattamento. Anche rispetto a questo punto non si riscontrano validi studi di letteratura, come se gli elementi clinici che permettono di compiere tale valutazione non riuscissero a strutturarsi in progetti di ricerca usufruibili alla letteratura internazionale. La scarsa compliance dei nuclei familiari in cui si presentano esperienze precoci di maltrattamento e il forte impatto di queste sui minori presenti nel nucleo, sulle dinamiche familiari vigenti e anche sul genitore, maltrattante e non, probabilmente costituiscono un ostacolo all'inserimento di tali soggetti in progetti di ricerca prospettici, atti a definire l'impatto psicologico del maltrattamento nel medio e nel lungo termine.

Da un punto di vista clinico, invece, la valutazione della cascata di fenomeni psichici, innescata dal trauma del maltrattamento infantile ha ricevuto uno stimolo significativo dai contributi di numerosi autori, per i quali la carenza dell'holding materno e l'instabilità dell'attaccamento possono avere effetti patogeni sullo sviluppo nei termini di "difetto fondamentale"<sup>446</sup>, di "manovre difensive del Sé contro l'angoscia di ritorno ad uno stato non integrato"<sup>447</sup>, di costituzione di "modelli operativi interni" improntati all'insicurezza e all'imprevedibilità.<sup>448</sup>

#### 4.3.5.1 Il trauma

Il maltrattamento infantile rappresenta un evento che, agendo su un soggetto che non ha ancora raggiunto un adeguato livello di maturità psicoaffettiva, supera la capacità di elaborazione dell'Io e sovverte il preordinato processo di sviluppo psicologico del bambino.<sup>452</sup>

Nella concezione psicoanalitica classica, il trauma psichico, rappresenta un evento inatteso ed improvviso la cui intensità risulta tale da invalidare la capacità di elaborazione dell'Io inducendo effetti patogeni durevoli nell'organizzazione psichica.<sup>449</sup> Il ruolo del trauma subito in infanzia quale agente eziopatogenetico dei disturbi psichici era già presente nella teorizzazione di Freud, il quale riconobbe nell'evento di precoce seduzione infantile il fattore responsabile dell'induzione del quadro nosologico dell'isteria.<sup>450</sup>

La situazione di abuso si connota come un trauma psicologico, che innesca una serie di fenomeni psichici attuati a scopo difensivo e che, in un momento successivo, danno luogo a svariati quadri psicopatologici. Alla base dello sviluppo delle sequele psicopatologiche indotte dal maltrattamento infantile, si colloca la presenza di un sistema di attaccamento disorientato-disorganizzato, che esita nella costituzione di modelli operativi interni molteplici e contraddittori. La confusione insita nei modelli operativi interni si traduce in una serie di rappresentazioni del Sé antitetiche che si polarizzano in tre costrutti del Sé: Sé vittima, Sé persecutore e Sé salvatore.<sup>451</sup> L'esperienza di frammentazione del Sé risulta alla base della psicopatologia dissociativa che frequentemente ricorre nelle situazioni di maltrattamento infantile. La difficoltà incontrata dal bambino maltrattato nell'elaborare l'abuso deriva in parte dall'inibizione della funzione riflessiva del Sé, che induce una regressione a modalità relazionali e meccanismi di difesa di tipo arcaico caratterizzati dalla predominanza di aspetti quali la confusione pulsionale e gradi estremi di aggressività e distruttività.<sup>452</sup>

I sintomi comportamentali che s'innescano a partire dai vissuti traumatici del bambino maltrattato consistono principalmente in: sintomi di angoscia come paure immotivate, insonnia, incubi, problemi somatici (enuresi encopresi, cefalea mal di stomaco); disturbi delle condotte alimentari; reazioni dissociative e sintomi isterici, come periodi di amnesia, sogno ad occhi aperti; depressione manifestata

sotto forma di bassa autostima, inibizione e passività del pensiero (pseudo insufficienza mentale), sfiducia, condotte suicidarie, autolesionismo, isolamento sociale e difficoltà scolastiche (con deficit di memoria e attenzione); disturbo del comportamento come aggressività, iperattività, crisi di rabbia, atteggiamenti oppositivi; disturbo del comportamento sessuale, in particolare comportamenti sessualizzati.

#### 4.3.5.2 Io, Sé e relazioni oggettuali

Gli affetti traumatici, data la loro intensità e conflittualità non possono essere codificati dalla memoria nel processo di continua trasformazione e rivitalizzazione del Sé, impedendo l'accesso a livelli di funzionamento superiori e l'acquisizione di nuovi significati. La severità del trauma o il suo reiterarsi in modo sistematico rappresentano dei fattori discriminanti rispetto alla possibilità di inferire lo sviluppo di effetti psicopatologici.<sup>453</sup>

Il maltrattamento minorile si configura come un evento traumatico che inficia in modo significativo l'assetto narcisistico del soggetto, l'organizzazione dell'Io e del Super-Io nonché la strutturazione delle relazioni oggettuali esitando in multiformi quadri psicopatologici. Il perturbamento delle funzioni dell'Io si traduce in marcate alterazioni a carico dell'immagine corporea, del proprio senso dell'identità e dell'esame di realtà.<sup>454</sup> Accanto ad un Io deficitario si colloca un Super-Io arcaico e primitivo, derivante dall'introiezione degli aspetti aggressivi, colpevoli e difensivi di genitori violenti o abbandonici. Il Super-Io perde le sue qualità normative e protettive, trattando i segnali interni ed esterni in base alla "legge del taglione"; tale situazione induce un cospicuo aumento dei meccanismi proiettivi nel tentativo di difendersi da una colpa talmente grande da non poter essere contenuta all'interno dell'apparato psichico ma solo espulsa all'esterno mediante meccanismi, quale l'identificazione con l'aggressore.<sup>455</sup>

Tra i meccanismi difensivi principalmente utilizzati nei bambini e adolescenti (anche negli adulti, in verità) vittime di maltrattamento la letteratura descrive: la dissociazione, la scissione, la rimozione, il diniego e l'identificazione con l'aggressore. Tali meccanismi che la mente mette in atto per potersi proteggere dall'impatto catastrofico traumatico del trauma subito, andranno chiaramente ad

influire sull'identità, sulle relazioni con gli altri e con il mondo esterno del bambino. Con la dissociazione, il soggetto sfugge alla realtà, isolando le esperienze traumatiche in una parte remota della sua mente e proteggendo così l'integrità personale, ma distanziandosi anche dal mondo esterno, almeno parzialmente. Nonostante sia un meccanismo necessario in fase acuta, se protratto troppo a lungo esso provoca una frattura nel senso di identità e della continuità della memoria e dell'integrazione del Sé. Con la scissione, il soggetto traumatizzato attua una netta separazione tra realtà, oggetto, Sé buono e cattivo; il maltrattamento viene scisso dall'esperienza di accudimento, il genitore abusante viene scisso dal genitore accudente, il Sé maltrattato viene scisso dal Sé amato. Il rischio di un uso massiccio di difese come la scissione sono le derive psicotiche. Con la rimozione, in modo piuttosto evoluto rispetto alle difese precedentemente descritte, il soggetto esclude dalla coscienza un contenuto mentale, insopportabile o sentito come pericoloso come l'esperienza di maltrattamento subita. La rimozione permette di continuare a svolgere le funzioni di tutti i giorni, pena però, nel suo protrarsi a lungo termine, della perdita di altri ricordi del soggetto e parti del Sé anche solo lontanamente connesse all'evento rimosso. L'identificazione con l'aggressore rappresenta la quarta tipica difesa inconscia di fronte a traumi violenti come il maltrattamento. Tale meccanismo non consiste solamente nell'agire ciò che è stato subito, ma anche pensare come l'aggressore, assecondando i suoi desideri, ed assumendo nei suoi confronti una camaleontica compiacenza. Non è solo assumere gli atteggiamenti violenti dell'aggressore ma è mettersi nei suoi panni, adattandosi alla sua mente per anticipare i suoi desideri facendoli propri per paura di essere annientato, realizzando così un diabolico progetto per la sopravvivenza: "sarò come tu mi vuoi". L'angoscia di annientamento quando raggiunge livelli molto alti costringe il bambino automaticamente a sottomettersi alla volontà dell'aggressore e ad indovinare tutti gli impulsi di desiderio, e dimenticando se stesso ad esaudirli identificandosi completamente con lui .

#### 4.3.5.3 Sequele psicopatologiche versus riparazione

Lo sviluppo di sequele psicopatologiche non è tanto imputabile al trauma subito, quanto alle dinamiche psichiche attuate in senso difensivo al fine di proteggersi dall'intolleranza dell'evento traumatico stesso.<sup>456</sup> Il massiccio utilizzo di tali difese, soprattutto se messe in atto in modo prolungato e ripetuto, costituiscono la base per l'insorgere di disturbi psicopatologici severi. La letteratura sull'argomento, evidenzia una prevalente associazione con quadri psicopatologici come disturbi di personalità, più specificatamente il Disturbo Borderline di personalità,<sup>457 458</sup> Disturbi Dissociativi,<sup>459 460</sup> Disturbi d'ansia,<sup>461 462</sup> Depressione e Abuso di sostanze,<sup>463 464</sup> cronica inabilità a modulare le emozioni,<sup>465</sup> condotte autolesive,<sup>466</sup> disturbi della sfera alimentare,<sup>467</sup> suicidio.<sup>468</sup>

Nonostante sia impossibile ignorare la distorsione operata sui processi di differenziazione e d'integrazione della personalità da un'esperienza di abuso infantile, non si può trascurare la possibilità d'intervento di esperienze riparatorie, anche in virtù di un'intrinseca capacità di resistenza alle difficoltà della vita. La resilienza, concetto mutuato dalla fisica nelle scienze sociali, individua la capacità del soggetto di resistere alla distruzione proteggendosi da circostanze difficili. Essa individua la possibilità di reagire positivamente alle difficoltà, ricorrendo ad un'intrinseca abilità di usare l'esperienza appresa in situazioni frustranti per impiegarla in processi trasformativi e di recupero. La possibilità di storicizzare un'esperienza di abuso e di attribuirle un significato all'interno della storia individuale, dipende da fattori costituzionali di temperamento e da caratteristiche del contesto socio- culturale.<sup>452</sup>

#### **4.4 L'impatto sul nucleo familiare: la famiglia maltrattante**

Le manifestazioni di maltrattamento infantile sono il segno di una patologia della genitorialità, cioè dell'incapacità del genitore a prendersi cura del figlio in modo "sufficientemente buono". La relazione maltrattante investe il funzionamento globale della famiglia, all'interno della quale si intrecciano le problematiche dei singoli e le patologiche dinamiche relazionali. La maggior parte delle famiglie maltrattanti sono famiglie disfunzionali, con molteplici ed articolate difficoltà su diversi piani.<sup>469</sup>



La letteratura scientifica ha studiato e dimostrato come lo stress rivesta una funzione cruciale nei casi di maltrattamento. Esso, infatti, incide: a livello individuale, sulla salute fisica e psichica; a livello relazionale, sia coniugale che genitoriale; a livello sistemico, tra i diversi membri della famiglia, in modo sia trans-generazionale (genitori-figli) che intra-generazionale (fratelli). Lo stress ha un ruolo determinante sia per quanto riguarda le cause che le conseguenze del maltrattamento: può essere alla base di una reazione impulsiva del genitore nei confronti del bambino e innescare un agito maltrattante; al tempo stesso, lo stress può essere una conseguenza nel bambino che si trova a rispondere ad un evento stressante ad elevata valenza traumatica, rappresentato dall'agito maltrattante da parte del genitore. Le ripercussioni a livello familiare e sistemico di tali dinamiche relazionali e individuali presentano pertanto molteplici sfaccettature.<sup>470</sup>

Nonostante non esista uno stereotipo di famiglia maltrattante, la letteratura sul maltrattamento ha avuto modo di individuare i fattori di rischio che, a diversi livelli, permettono di studiare il fenomeno in questione. Il modello ecologico del maltrattamento aiuta a comprendere questo fenomeno nella sua complessità, considerando al contempo variabili: culturali, sociali, comunitarie, familiari, individuali. (Figura 14)

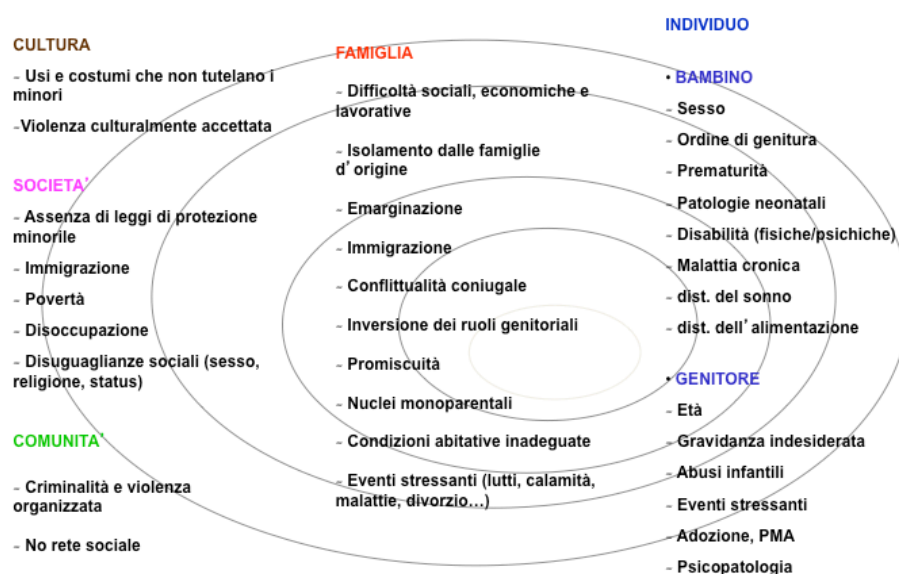


Figura 14 - Modello ecologico del maltrattamento

Tra i fattori di rischio del genitore, la letteratura individua come principali, nelle diverse forme di maltrattamento: una storia di abuso in infanzia; elevati livelli di stress; scarse capacità di problem solving; disturbi psichiatrici (Dist. umore, Dist. ansia, Dist. Personalità); rabbia, ostilità e aggressività caratteriali; ambivalenza verso il ruolo genitoriale; scarse risorse (personali, finanziarie, sociali...); problemi coniugali; mancanza di controllo degli impulsi; abuso di sostanze.

Da un punto di vista intrapsichico, i genitori abusanti presentano un livello più basso di maturazione psico-emotiva rispetto ai genitori non abusanti. Sono più impulsivi, direttivi e fisici nel loro ruolo genitoriale, agendo con comportamenti non mediati dal pensiero. Educano il figlio considerando solo il loro punto di vista per il proprio benessere, incapaci di cogliere l'individualità del bambino o del ragazzo e i suoi specifici bisogni. I genitori di livello più elevato di maturazione psico-emotiva usano maggiormente le parole e ragionano coi figli, come strumento educativo, considerando il figlio come un individuo con i suoi specifici bisogni e desideri.

In conclusione, i diversi argomenti trattati in questa ultima parte dell'introduzione, relativi all'impatto di stress acuti e cronici sulla salute globale del bambino e dell'adolescente, a livello biochimico, morfologico e funzionale, hanno messo in evidenza le pesanti ripercussioni cui può incorrere un minore maltrattato. Nei casi di maltrattamento, nelle sue molteplici forme, vengono infatti a mancare le condizioni necessarie per uno sviluppo sufficientemente sano del minore e per la tutela della sua salute. In questo contesto, assume importanza cruciale effettuare tempestivamente una diagnosi a livello sia individuale che sistemico, in modo da poter prendere in carico innanzitutto il minore, nel tentativo di riparazione della condizione patologica organica e psicologica, ma al contempo anche il genitore, così da bloccare la reiterazione del maltrattamento e lavorare sulla consapevolezza e sulla recuperabilità delle capacità genitoriali, qualora possibile.

## **OBIETTIVI DELLO STUDIO**

L'obiettivo generale del presente progetto è stato quello di valutare se, e comprendere come, la condizione di stress cronico con esacerbazioni episodiche a poussées determinata dal maltrattamento ai minori, può provocare, tramite la cronica attivazione delle vie fisiologiche di risposta allo stress, delle conseguenze patologiche sulla salute globale e sullo sviluppo del bambino o dell'adolescente e del nucleo familiare. Si è deciso di valutare tali possibili conseguenze su tre diversi livelli tra loro interconnessi, con peculiari obiettivi specifici:

- A livello morfologico: la ricerca di eventuali alterazioni volumetriche e strutturali nelle aree e nei fasci cerebrali di sostanza bianca implicati nella risposta allo stress;
- A livello biochimico: lo studio del funzionamento dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene attraverso la valutazione del ritmo circadiano del cortisolo salivare;
- A livello funzionale: la valutazione di un serie di aree di funzionamento del paziente pediatrico e dei suoi genitori, tra cui: il funzionamento comportamentale e affettivo del bambino e dell'adolescente, la salute psico-fisica del genitore, lo stress genitoriale e alcune funzioni cognitive specifiche (memoria, attenzione, riconoscimento delle emozioni).



## **MATERIALI E METODI**

### **1. IL CENTRO REGIONALE PER LA DIAGNOSTICA DEL BAMBINO MALTRATTATO**

#### **1.1 Storia e attività del Centro**

Il Centro per la Diagnostica del Bambino Maltrattato, è nato basandosi su una attività ed esperienza già presente in Azienda Ospedaliera da più di vent'anni. È infatti nel 1987 che si è costituita, presso il Dipartimento di Pediatria di Padova, l'Unità di Crisi per Bambini Maltrattati, composta da un gruppo di professionisti che hanno messo inizialmente a disposizione degli altri colleghi del Dipartimento e dell'Ospedale padovano le loro esperienze e competenze professionali come consulenza e supporto in caso di sospetto maltrattamento. Il gruppo, originariamente formato da 2 pediatri, 1 neuropsichiatra infantile, 1 medico legale, si è andato arricchendo nel tempo di presenze di altri professionisti e di altre culture specialistiche, di competenza specifica ed esperienza e si è velocemente imposto nel panorama nazionale e internazionale come un'esperienza unica e in qualche misura assai autorevole. Testimonianza di ciò sono gli incarichi in campo internazionale e nazionale che, dopo relativamente pochi anni, gli sono stati affidati, come il riconoscimento del primo premio per la migliore ricerca in campo del maltrattamento conferito a Chicago, USA, dall'ISPCAN nel 1992, l'organizzazione del congresso mondiale dell'ISPCAN (International Society for Prevention on Child Abuse and Neglect, la più rilevante società scientifica internazionale nel campo del maltrattamento) nel 1993, nel 1996 l'incarico di seguire, per l'ufficio di Copenaghen della Regione Europea dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS), il tema della protezione del bambino nei 57 Paesi della Regione, e in seguito la realizzazione a Padova del First Meeting On Strategies for Child Protection nel 1998. Poco dopo poi alla stessa unità fu dato l'incarico di consulenza all'Ufficio Centrale di Ginevra dello stesso OMS per i temi del maltrattamento e della violenza. L'Unità di Crisi di Padova ha costituito la Best Practices di riferimento, assieme all'analoga unità del Sick Children Hospital di Toronto per l'approccio clinico ai bambini maltrattati e ha predisposto

l'istruttoria tecnica per la realizzazione della World Consultation on Child Abuse Prevention nel 1999, che ha ridefinito la nosologia delle sindromi da maltrattamento. Infine nel 2003 si è concluso il primo Master internazionale congiunto tra Università di Padova, Karolinska Institutet di Stoccolma, Università Parigi XXII° e Università di Oporto, con la partecipazione dell'ufficio centrale dell'OMS di Ginevra, coordinato dal gruppo padovano, in Community Protection and Safety Promotion, dedicato alla prevenzione della violenza e al trattamento delle vittime, al fine di ridurre il danno individuale e l'impatto sulla società.

Contemporaneamente alle azioni sul piano internazionale, sono andati crescendo gli impegni clinici di diagnosi e trattamento dei casi e di formazione e aggiornamento dei professionisti in tutta Italia, ivi compreso i corsi per Presidenti di Tribunali organizzati dal Consiglio Superiore della Magistratura.

## **1.2 Istituzione del Centro e attività svolta**

Il Centro è stato istituito il 22.09.2000 presso l'Azienda Ospedaliera di Padova, incardinato presso il Dipartimento di Pediatria dell'Azienda Ospedaliera e il 24.02.2009 è stato inserito nell'elenco dei Centri regionali Specializzati o di riferimento sottoposti a conferma dello status dopo verifica della sussistenza dei requisiti minimi di qualità richiesti. Il centro si rivolge a tutti i neonati, bambini o adolescenti e le loro famiglie in cui esista un sospetto di maltrattamento fisico, abuso sessuale, trascuratezza, abuso psico-emozionale e altre forme di abuso o maltrattamento.

L'attività clinica consiste in:

- l'inquadramento diagnostico dei casi in fase acuta, la definizione della diagnosi differenziale, l'attivazione di indagini di diagnostica clinica specialistica, la psico-diagnosi e la prescrizione di indagini strumentali specifiche, anche in consulenza formalizzata a distanza per i presidi della rete ospedaliera regionale e interregionale, per i servizi socio-sanitari territoriali e per l'Autorità Giudiziaria;
- valutazione del danno attuale, potenziale ed evolutivo da maltrattamento e del potenziale di sviluppo del bambino;
- valutazione diagnostica e prognostica degli adulti di riferimento

- osservazione e valutazione delle relazioni familiari vigenti nel nucleo
- progettazione e realizzazione di percorsi di presa in carico integrata e di piani assistenziali integrati individuali per il bambino e la famiglia con la rete dei servizi territoriali;
- pianificazione e monitoraggio del rientro del paziente nel luogo di vita;
- avvocatura sanitaria per i pazienti e le loro famiglie;
- supporto psicologico ai familiari;
- audizioni protette.

Presso il Centro l'assistenza ai pazienti può essere erogata in regime di: ricovero Ordinario; ricovero Day-Hospital; presa in carico integrata; ambulatorio; consulenza formalizzata a distanza. Il Servizio si avvale di un'infrastruttura specifica, diretta a consentire lo svolgimento di audizioni protette, la videoregistrazione di colloqui e osservazioni, la videosorveglianza nelle stanze di degenza ospedaliera per la completa tutela del minore, nonché l'attivazione di azioni di telemedicina e teleconsulto. La struttura dispone di: un reparto con 3 stanze di degenza videosorvegliate (*inpatient*), una stanza giochi ed un soggiorno/cucina; 2 ambulatori per i colloqui e le visite (*outpatient*); 2 stanze con specchio unidirezionale ed apparecchiatura di videoregistrazione per le audizioni protette.

Il Centro si avvale di professionisti operanti da oltre vent'anni nel campo del maltrattamento e abuso di minori e può contare sulle competenze e sulle tecnologie di una struttura ospedaliera di eccellenza dedicata ai bambini. L'équipe di base è costituita dalle seguenti figure professionali: pediatra, medico di comunità, neuropsichiatra infantile, psicologo psicoterapeuta dell'età evolutiva, psicologo psicoterapeuta individuale e di gruppo dell'età adulta, assistente sociale, infermiere, biologo genetista, avvocato. L'équipe inoltre si avvale di una rete di consulenti dedicati costituita da: medico legale, neuroradiologo, radiologo, oftalmologo, neurochirurgo, dermatologo, neurologo, ginecologo, psichiatra, gastroenterologo, chirurgo, chirurgo plastico. Il Centro è inoltre attivamente impegnato nella formazione curricolare pre-laurea e post-laurea di nuovi professionisti che entreranno in contatto con bambini maltrattati, oltre che nell'aggiornamento professionale di medici ed altri operatori già attivi nelle

strutture del Servizio Sanitario, e nella definizione di protocolli diagnostici condivisi per l'intera rete regionale. È parte, inoltre, di reti di ricerca nazionali ed internazionali sui temi della diagnosi e della cura dei casi di maltrattamento e abuso.

## **2. DISEGNO DELLO STUDIO E CASISTICA**

Disegno: Studio prospettico sul profilo di indicatori morfologici, biochimici e funzionali di minori con diagnosi di maltrattamento.

Popolazione: Coorte di bambini con diagnosi di maltrattamento e rispettivi genitori, afferenti al Centro per la Diagnostica del Bambino maltrattato nel periodo tra gennaio 2014 e dicembre 2014. Sono stati inseriti nello studio 50 minori con diagnosi di maltrattamento e con età compresa tra i 4 e i 17 anni afferiti al Centro Regionale per la Diagnostica del Bambino Maltrattato dell'Azienda Ospedaliera-Università degli studi di Padova da dicembre 2013 a dicembre 2014. Di questi pazienti reclutati, 7 sono stati esclusi poiché i caregiver non sono riusciti o si sono rifiutati di effettuare la misurazione del cortisolo salivare. Il cut-off dell'età è stato deciso sulla base dello studio della letteratura specifica sull'argomento, la quale evidenzia che il device Salivette® disponibile presso la nostra struttura non è adatto per pazienti di età inferiore ai 4 anni a causa delle eccessive dimensioni del tampone di cotone in esso contenuto (diametro 1.3 cm; lunghezza 3.5 cm); oltre al pericolo di ingerire il tampone, bambini troppo piccoli sono stressati da questa procedura.<sup>183</sup> Per ciascun paziente sono stati raccolti dati obiettivi morfometrici e dati clinici relativi alla storia di abuso. Questi pazienti sono stati sottoposti a: misurazioni morfologiche (n=43) con RM 3T DTI e ricostruzione trattografica di fasci di sostanza bianca di aree implicate nella risposta allo stress; misurazioni biochimiche (n=43), con studio del ciclo circadiano del cortisolo salivare mediante tampone Salivette®.

Una popolazione più vasta di bambini con diagnosi di maltrattamento e rispettivi genitori, afferenti al Centro per la Diagnostica del Bambino maltrattato nel periodo tra gennaio 2011 e dicembre 2014, di età compresa tra 0 e 17 anni, è stato sottoposto a misurazioni funzionali (n=94) con valutazioni cognitive,



comportamentali e affettive, e della psicopatologia e dello stress del genitore (CBCL; SCL-90R; PSI).

I pazienti inseriti nello studio erano in regime di: ricovero ordinario, day hospital o ambulatoriale. I criteri d'inclusione prevedevano la presenza di una diagnosi di maltrattamento ai minori e l'assenza di altre diagnosi o patologie organiche. Per ogni paziente è stata effettuata una visita pediatrica generale ed esami ematochimici di controllo.

### **3. IL CORTISOLO SALIVARE**

Nel nostro studio sono stati adottati il metodo di raccolta del campione tramite tampone Salivette® con tampone in cotone imbevuto di acido citrico per stimolare la salivazione (in quanto altrimenti con pazienti pediatriche si rischiava di non raccogliere sufficienti quantità di materiale da analizzare). La tecnica laboratoristica di misurazione del cortisolo nei campioni di saliva è stata la HPLC-MS/MS (*high performance liquid chromatography - mass spectrometry* – spettrometria di massa con cromatografia in fase liquida). Questa è una tecnica innovativa, che supera le problematiche delle precedenti metodiche immunometriche (in cui gli anticorpi utilizzati per la quantificazione indiretta delle molecole in esame potevano cross-reagire con molecole simili) ed è adottata ancora da pochi laboratori in Italia, tra cui quello della nostra Azienda Ospedaliera. Nel nostro laboratorio esso è strutturato in una prima fase in cui il campione viene purificato tramite una cromatografia grezza *Solid Phase Extraction* (SPE), successivamente, per separare le diverse molecole presenti nel solvente viene eseguita una cromatografia in fase liquida (*high performance liquid chromatography* -HPLC) e, infine, per riconoscere le molecole, viene eseguita una spettrometria di massa tandem (MS/MS) che è in grado di separare una miscela di ioni in funzione del loro rapporto massa/carica, ottenendo così per ogni composto il caratteristico spettro di massa. Tale metodo è assolutamente il migliore attualmente disponibile, il più preciso, ma è ancora poco diffuso perché estremamente costoso e in quanto richiede il lavoro di personale molto qualificato e molta più manodopera rispetto ai precedenti metodi immunometrici, nei quali vi

è un maggior tasso di automazione. I relativi livelli di riferimento, alle ore 8:00 sono compresi tra 3,0 – 21,1 nMol/L, e alle ore 23:00 sono compresi tra 0,5 – 2,6 nMol/L. Se conservato a 4°C il campione risulta stabile per una settimana. Considerato l'elevato grado di compliance che la raccolta del campione salivare autonoma domiciliare comporta, per ciascun paziente in regime ambulatoriale o di day hospital è stato effettuato un apposito colloquio, al fine di illustrare dettagliatamente, al paziente e al relativo caregiver, il preciso protocollo di raccolta da seguire. Per la raccolta del campione nei pazienti in regime di ricovero, invece, ci si è avvalsi della collaborazione di personale infermieristico appositamente istruito, e si sono scelti per l'operazione giorni di fine ricovero in cui il bambino fosse fisicamente guarito e non fosse sottoposto ad ulteriori eventi stressanti diversi da quelli relativi alla propria condizione di minore maltrattato.

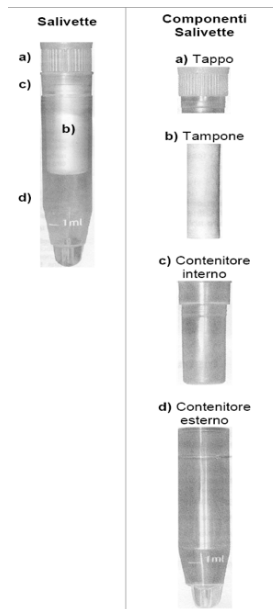
Il protocollo prevedeva che il paziente, sotto la supervisione del caregiver, raccogliesse 6 campioni di saliva diversi, in 6 precisi momenti della giornata (al risveglio, 30 minuti dopo il risveglio, prima di pranzo, a metà pomeriggio, prima di cena, prima di dormire), segnando in un apposito modulo consegnatogli in occasione del colloquio: i propri dati demografici (nome, cognome, data di nascita, età, sesso), quale era stato il caregiver che aveva assistito il paziente nella raccolta dei campioni (madre, padre, altro familiare, infermiere, educatore di comunità, etc.) e la precisa ora a cui le raccolte erano avvenute con il relativo numero di provetta utilizzata (vedi Allegato A).

Al paziente era raccomandato di rispettare le seguenti indicazioni:

- non assumere cibi e bevande nelle 2 ore precedenti ad ogni raccolta.<sup>471 472</sup> in tale periodo era concesso al paziente di assumere solamente acqua e non lavarsi i denti poco prima della raccolta, per evitare che, a seguito dell'eventuale trauma gengivale, tracce ematiche contaminassero il campione;
- non assumere liquirizia il giorno della raccolta, in quanto il suo principio attivo, l'acido glicirrizico, può inibire l'attività della 11 $\beta$ -HSD di tipo 2 e falsare di conseguenza i livelli di cortisolo salivare;
- non fumare il giorno della raccolta, poiché anche il fumo può incidere sui valori di cortisolo nella saliva;

- eseguire la raccolta dei campioni in una giornata routinaria, priva di eventi stressanti, in ambiente il più possibile rilassato e tranquillo.

Il tampone Salivette® è costituito da un contenitore interno (c) contenente il tampone vero e proprio (b), un contenitore esterno (d) e un tappo (a) (Figura 15 - Composizione del tampone Salivette®)



**Figura 15 - Composizione del tampone Salivette®**

Per la raccolta del campione il paziente è stato istruito a sfilare il contenitore interno da quello esterno e togliere il tappo. Una volta aperto il contenitore interno il paziente doveva far scivolare il tampone direttamente in bocca senza toccare il tampone con le dita.

Una volta aperto il contenitore interno il paziente doveva far scivolare il tampone direttamente in bocca senza toccare il tampone con le dita (Figura 16).



**Figura 16 - Modalità di somministrazione del tampone**

Il paziente è stato quindi invitato a masticare delicatamente il tampone per due minuti circa. In questo studio sono stati utilizzati tamponi imbevuti di acido citrico, la cui funzione era quella di stimolare la salivazione al fine di garantire l'adeguatezza delle quantità di saliva raccolte. Una volta percepita la necessità di deglutire, al paziente era richiesto di espettorare il tampone e la saliva nel contenitore interno, sempre senza mai toccare il tampone con le dita. Alla fine delle operazioni richiudere la provetta, inserendo il contenitore interno nel contenitore esterno e premendo saldamente il tappo. Le indicazioni erano poi di conservare il campione raccolto in frigorifero e riporlo poi in sacca frigo con ghiaccio, appositamente forniti, al momento della consegna in ambulatorio.

### **3.1 Controlli**

I valori di cortisolo salivare della nostra casistica sono stati confrontati innanzitutto con i valori di riferimento di soggetti sani adulti, fornitici dal Laboratorio Analisi dell'Azienda Ospedaliera di Padova. Non è stato possibile confrontare i nostri dati con la popolazione sana pediatrica, dal momento che attualmente tali valori di riferimento non sono disponibili.

Inoltre, non vi sono studi di letteratura che forniscano valori di cortisolo salivare in popolazioni sane, né adulte né pediatriche, ottenute mediante metodi spettrometrici di analisi del campione, nonostante le linee guida internazionali in materia definiscano la spettrometria di massa come il metodo elettivo a tal fine. Non esistono neppure studi che confrontino i valori di cortisolo salivare ottenuti utilizzando i due differenti metodi, immunometrico e spettrometrico.

In assenza di chiari valori di riferimento ufficiali di concentrazione di cortisolo salivare, abbiamo utilizzato come confronto i dati di una casistica di controlli sani ottenuti dallo studio longitudinale del National Institutes of Health (NIH) MRI Study of Normal Brain Development (Pediatric MRI Study), il cui obiettivo ultimo era quello di promuovere una migliore comprensione della normale maturazione del cervello, come base per interpretare le alterazioni dello sviluppo cerebrale associate a diversi disturbi e malattie.

Lo studio ha coinvolto 6 diversi centri pediatrici americani e 550 bambini sani di età alla prima visita compresa tra i 10 giorni e i 18 anni, selezionati con criteri tali da riflettere i dati demografici degli Stati Uniti in termini di reddito, razza ed etnia. I soggetti sono stati valutati, sia con neuro-immagini che con misurazioni cliniche-comportamentali, rilevate in diversi momenti nel corso dei 7 anni di durata della ricerca, in occasione di apposite giornate di valutazione (da 3 a 10 per ciascun paziente) in cui il soggetto sano si recava al relativo centro pediatrico partecipante allo studio per sottoporsi alle prove.

Tra misurazioni cliniche rilevate vi erano quelle relative al cortisolo salivare. I metodi di raccolta del campione prevedevano che ad ogni visita, durante il giorno di valutazione, al paziente fosse richiesto di produrre 2 campioni separati di saliva (1-3cc), in 2 momenti diversi tra le ore 12:00 e le ore 18:00. Era fondamentale che i campioni fossero raccolti mentre il soggetto era rilassato, e non dopo procedure potenzialmente stressanti (es. RMN). I momenti suggeriti nei protocolli erano quelli prima e dopo le misure comportamentali e i test cognitivi. In particolare, era indicato che la raccolta del primo campione avvenisse attorno a mezzo giorno e, quella del secondo, circa 2-3 ore dopo la raccolta del primo campione, ma non meno di un ora dopo; ricordando di annotare il tempo di raccolta. Era inoltre specificato che la raccolta del campione di saliva sarebbe dovuta avvenire nel pomeriggio, se questo timing non fosse stato possibile allora anche la tarda mattinata (10:00 o più tardi) sarebbe stata accettabile. Vi era comunque indicazione a non raccogliere i campioni prima delle ore 10:00 o dopo le ore 18:00.

La metodica di raccolta del campione prevedeva l'utilizzo di gomma Trident® senza zucchero, che il soggetto era istruito a masticare dopo essersi lavato accuratamente la bocca con acqua, per poi raccogliere la saliva, attraverso un apposito imbuto, in un tubetto di raccolta. Entrambi, l'imbuto e il tubetto di raccolta, erano in polipropilene. Una volta raccolti 3cc di campione di saliva il soggetto era invitato a chiudere il tubetto, che sarebbe poi stato etichettato segnando ID, altezza, peso, data e giorno di raccolta del campione, per essere poi spedito da ciascuno dei sei centri dello studio alla University of California, Los Angeles (UCLA) dove sarebbe stato analizzato.

Per quanto riguarda le informazioni relative alla razza biologica dei bambini, lo studio si è riferito alle cinque razze indicate da the Office of Management and Budget (OMB) - secondo la revisione del 97 degli standard per la classificazione dei dati federali su razza e etnia -, ovvero: indiano d'America o nativo dell'Alaska, asiatico, nero o afroamericano, ispanico o latino, nativo delle Hawaii o di un'altra isola del pacifico, bianco. Altre categorie utilizzate sono state: not provided e le combinazioni delle categorie principali (nel caso in cui i genitori del soggetto appartenessero a due razze diverse).<sup>473</sup>

Come popolazione di controllo, abbiamo inoltre selezionato delle fonti in letteratura che riportavano i valori di cortisolo salivare di una popolazione sana. Ci siamo riferiti ai lavori di Kirschbaum e Hellhammer (2000)<sup>116</sup>, riportato dalla Encyclopedia of Stress (2nd edition - 2007)<sup>474</sup>, di Gröschl et al. (2003)<sup>183</sup> e di Pruessner et al. (1997) già descritti nell'*Introduzione*.<sup>475</sup> Tutti questi studi hanno utilizzato metodi immunometrici di quantificazione del cortisolo, a differenza dei metodi spettrometrici utilizzato dal nostro. Costituendo però l'unica possibile fonte di confronto con valori di riferimento di popolazioni sane, oltre a quelli forniti dal nostro laboratorio analisi, abbiamo comunque provato ad effettuare tali analisi. Attualmente non vi sono studi di letteratura che paragonino i valori di cortisolo salivare ottenuti mediante i due differenti metodi laboratoristici.

#### **4. NEUROIMAGING**

Tutti i 43 pazienti che hanno effettuato la valutazione del funzionamento biochimico, attraverso lo studio del ciclo circadiano del cortisolo salivare, sono stati sottoposti a misurazioni morfologiche con RM 3T DTI e ricostruzione trattografica di fasci di sostanza bianca di alcune aree implicate nella risposta allo stress. A tal fine è stato appositamente elaborato un algoritmo sperimentale. Attualmente, un caso del nostro campione, una paziente di sesso femminile di 15 anni vittima di un grave e cronico caso di abuso sessuale perdurato per 6 anni (dall'età di 9 anni a quella di 15 anni), è stato selezionato per lo studio morfologico di risonanza magnetica con applicazione sequenze DTI e successiva

ricostruzione trattografica di corpo calloso, forceps minor, forceps major e fornice.

#### **4.1 Acquisizione delle immagini**

Le immagini di risonanza magnetica sono state acquisite utilizzando una RM 3T (Ingenia, Philips Healthcare, Best, Netherlands) e una bobina per lo studio della testa a 32 canali. Sono state eseguite le seguenti sequenze per il confronto anatomico e l'acquisizione della DTI: 3D high-resolution T1 weighted Fast Field Echo (FFE) acquisita con i seguenti parametri: TR 7.85 ms; TE 3.6 ms; flip angle 8 gradi; FOV 220 x 220 mm<sup>2</sup>; matrice di ricostruzione 448 x 448 ; voxel size 1x1x1 mm. Tempo di acquisizione: 6 minuti. Per la trattografia la diffusione è stata acquisita con una sequenza *dual phase encoded pulsed gradient spin echo* (scelta per migliorare la correzione degli artefatti dovuti alla suscettibilità del campo e alle distorsioni legate alle Eddy currents), e applicando il gradiente di diffusione in 32 direzioni selezionate seguendo le regole di un modello di repulsione elettrostatica. Gli altri parametri della sequenza sono: diffusion weighting b-factor 1000 s/mm<sup>2</sup>; TR 9782.96 ms; TE 95.9 ms; FOV 224 x 224 mm<sup>2</sup>; matrice di scansione 112 x 112; matrice di ricostruzione 112 x 112; spessore di acquisizione assiale 2 mm; nessun gap tra le fette. Il tempo totale di acquisizione dell'esame completo si è attestato sui 45 minuti.

#### **4.2 Trattografia**

Tutti i dati del paziente sono stati spazialmente normalizzati rispetto al *Montreal Neurological Institute* (MNI) stereotactic space usando lo strumento di segmentazione SPM8 ([www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm](http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm)). Abbiamo utilizzato una tecnica modificata della High Angular Resolution Diffusion Imaging (HARDI) chiamata non-negativity CSD. Questa tecnica stima la funzione di distribuzione dell'orientamento delle fibre (fODF) direttamente dal segnale DWI per mezzo della deconvoluzione sferica positiva (evitando le regioni negative non reali). Abbiamo in seguito ricostruito una mappa codificata per colori in cui i colori Rosso, Verde e Blu indicano le principali direzioni degli auto-vettori;

specificamente il Rosso evidenzia un pattern direzionale da Sinistra a Destra, il Verde uno Antero-Posteriore e il Blu identifica un vettore Caudo-Craniale. L'intensità e la purezza di questi colori variano a seconda del comportamento delle fibre in tutte le loro posizioni intermedie, indicanti la direzione voxel per voxel di ogni singolo tratto. Il grado di Spherical Harmonic è stato fissato pari a 8, in modo da ottenere una robustezza di valori rispetto al rumore. Usando un metodo basato sulla CSD per estrarre l'orientamento delle fibre locali, abbiamo operato in modo da superare gli effetti associati a fenomeni di volume parziale con la DTI e anche per migliorare la scarsa risoluzione angolare ottenuta mediante approcci differenti. Abbiamo perciò applicato un metodo probabilistico di trattografia, valutando la fODF peak direction più vicina alla direzione dello step precedente (come definito dai metodi di ottimizzazione di Newton), utilizzando un'interpolazione trilineare. La trattografia s'interrompe quando sussiste una delle seguenti condizioni nell'esecuzione dell'algoritmo tra due punti consecutivi : step size = 0.2 mm, maximum angle =  $10^\circ$ , minimal fODF amplitude = 0.15. (si tratta sicuramente di una scelta molto più conservativa rispetto ai soliti modelli standard, perché abbiamo preferito sottostimare alcuni fasci di fibre pur di ottenere ricostruzioni più consistenti senza falsi positivi). Valori di b più elevati consentono un'angolazione minore tra le fibre ma aumentano la difficoltà di correzione degli artefatti da movimento e da Eddy currents, quindi abbiamo optato per valori di b più bassi pur di attenuare questi fenomeni. Un ulteriore miglioramento nella definizione delle fibre tracciate è stato ottenuto mediante un approccio basato su modelli anatomici, utilizzando sia regioni di interesse (ROI) che regioni di esclusione (ROA), che al contrario delle prime escludono dal processo di ricostruzione alcune aree. Multiple ROI e ROA sono state combinate per ottenere la ricostruzione di ogni singolo fascio di fibre in analisi. Ciascuna ROI ha identificato uno spazio tridimensionale definito anche come Volume di Interesse (VOI).

### **4.3 Segmentazione**

La segmentazione è stata eseguita manualmente, attraverso un procedimento di seeding per singolo voxel. Per ottenere tale risultato sono stati eseguiti i seguenti



procedimenti: i valori di contrasto nel visualizzatore sono stati impostati in modo da aumentare la visibilità dei nuclei e la proiezione assiale è stata ingrandita fino a 7 volte in modo da facilitare il tratteggio dei fascicoli in esame sulla maschera.

## **5. PROVE FUNZIONALI**

A livello funzionale, la valutazione si prefiggeva l'obiettivo di valutare una serie di aree differenti seppur interconnesse:

- il funzionamento comportamentale e affettivo del bambino e dell'adolescente, attraverso l'utilizzo della Child Behavior CheckList (CBCL), nella forma 1,5-5 e 6-18 anni, somministrate a uno o entrambi i genitori del paziente;
- lo stress genitoriale, attraverso il Parenting Stress Index (PSI) somministrato a uno o entrambi i genitori del paziente;
- la salute psico-fisica del genitore, attraverso la somministrazione della Symptom Checklist-90-R (SCL-90-R).

### **5.1 Child Behavior CheckList (CBCL)**

La Child Behavior CheckList (CBCL) è un questionario autosomministrato di valutazione multiassiale del comportamento, delle emozioni e delle competenze del bambino e dell'adolescente, ideata e validata presso l'Università del Vermont dal prof. T.M. Achenbach. Essa si inserisce nel più vasto Sistema di Valutazione su Base Empirica di Achenbach (ASEBA) che comprende anche le scale YSR e TRF. La descrizione del repertorio comportamentale ed emotivo del bambino che si ottiene con la CBCL, è ricavata su base empirica dai resoconti forniti dai *care givers* che conoscono bene il bambino come genitori o insegnanti. Tale descrizione, articolata in apposite scale comportamentali, ha lo scopo di individuare la presenza di condotte potenzialmente problematiche, problemi emotivi e di comportamento. La CBCL è diffusamente utilizzata a livello internazionale in ambito sia clinico che di ricerca. Ed è uno strumento con buone proprietà psicometriche, attendibilità test-retest, stabilità nel tempo e validità

Attualmente esistono due forme di CBCL: la pre-school CheckList (CBCL 1½-5), elaborata per bambini di età compresa tra i 18 mesi e i 5 anni; e la school-age checklist (CBCL 6-18), elaborata per bambini di età compresa tra i 6 e i 18 anni. In entrambe le forme vi è una sezione iniziale in cui vengono raccolte informazioni demografiche, e notizie riguardanti la relazione tra colui che compila il test e il bambino. La CheckList è composta da una serie di item inerenti al comportamento del bambino, e le possibili risposte sono articolate secondo una scala Likert a 3 opzioni. Nella sezione di analisi dei profili ottenuti del test, item affini vengono raggruppati in apposite scale sindromiche e scale di competenze, le quali sono valutate sommando i punteggi degli item che le compongono. Il punteggio di ciascuna scala viene definito normale borderline o clinico in base ad apposite tabelle in percentili che riportano i range di riferimento per le singole scale.

La CBCL 1½-5 si compone di 7 scale sindromiche:

- Reattività emotiva: che tiene conto della presenza di comportamenti caratterizzati da panico, preoccupazioni, ridotta tolleranza dei cambiamenti, cattivo umore.
- Ansia/depressione: indaga la presenza di sintomi di tipo ansioso/depressivo come ad esempio tristezza, nervosismo, senso di paura.
- Lamentele somatiche: questa scala serve a valutare la tendenza ad esprimere ansia e preoccupazione attraverso disturbi fisici come nausea, vomito, diarrea, mal di testa.
- Ritiro: indaga l'ambito della chiusura sociale, espressa attraverso comportamenti come la tendenza ad evitare il contatto visivo, evitare di rispondere, rifiutare giochi attivi.
- Problemi del sonno: prende in considerazione comportamenti come il non volere dormire da soli, fare incubi, parlare o piangere nel sonno.
- Problemi di attenzione: valuta la presenza di problemi come la difficoltà a mantenere la concentrazione o a rimanere seduti.

- Comportamento aggressivo: studia la propensione ad assumere comportamenti aggressivi, provocatori e distruttivi nei confronti di persone o cose.
- Altri problemi: che racchiude gli item non riferibili a nessuna delle scale precedenti.

Alcune di queste scale sindromiche sono a loro volta convogliate in ulteriori scale di problematicità globale che valutano i problemi di carattere internalizzante o esternalizzante del bambino. I problemi di carattere internalizzante sono quelli ricollegabili alla dimensione personale del sé, mentre quelli di carattere esternalizzante sono così definiti perché riguardano i conflitti con altre persone e le loro aspettative nei confronti del bambino. Vi è infine uno score totale che è ottenuto dalla somma di tutti gli item che serve ad avere un quadro globale del funzionamento comportamentale del bambino.

La CBCL 1½-5 si compone inoltre di 5 scale *DSM-oriented*, così composte:

- problemi affettivi: indaga la presenza di sintomi come piangere, non mangiare bene, l'essere tristi.
- problemi d'ansia: indaga la presenza di sintomi come il non volere dormire da soli, avere paura, l'essere preoccupati o nervosi.
- problemi pervasivi dello sviluppo: indaga la presenza di sintomi come l'aver paura di provare nuove esperienze, evitare il contatto visivo o l'aver problemi di linguaggio.
- problemi da deficit di attenzione/iperattività: indaga la presenza di sintomi come il non riuscire a concentrarsi o il non riuscire a rimanere seduti.
- problemi di oppositività-provocazione: indaga la presenza di sintomi come l'essere disobbedienti, l'essere di cattivo umore o il non essere cooperativi.

Per quanto riguarda la CBCL 6-18 esistono due forme separate per maschi e femmine.<sup>476 477 478 479</sup> Usualmente la CBCL è utilizzata per delineare un profilo del funzionamento globale del bambino da un punto di vista di performance sociale, scolastica ed extrascolastica, di comportamento, di umore, di attenzione, di relazione e adattamento.

Nella CBCL 6-18 sono riportate le seguenti scale sindromiche:

- Ansia/depressione: indaga la presenza di sintomi di tipo ansioso/depressivo come ad esempio tristezza, nervosismo, solitudine, bassa autostima, sensazione di non essere amati.
- Ritiro/depressione: indaga ambiti come la chiusura sociale, la tendenza ad isolarsi, la timidezza e la riservatezza.
- Lamentele somatiche: valuta la tendenza ad esprimere ansia e preoccupazione attraverso disturbi fisici come nausea, mal di stomaco, mal di testa.
- Problemi di socializzazione: valuta la difficoltà nelle relazioni con i coetanei, come ad esempio l'essere presi in giro e il non andare d'accordo con i pari.
- Problemi di pensiero: valuta la presenza di pensieri e percezioni che non trovano riscontro nella realtà.
- Problemi di attenzione: valuta la difficoltà a mantenere la concentrazione e la propensione ad assumere comportamenti di tipo iperattivo, come ad esempio impulsività, nervosismo e irrequietezza motoria.
- Comportamento di trasgressione delle regole: valuta l'attitudine ad assumere comportamenti di tipo delinquenziale quali rubare, mentire, appiccare fuochi e far uso di alcool o stupefacenti.
- Comportamento aggressivi: studia la propensione ad assumere comportamenti aggressivi, provocatori e distruttivi nei confronti di persone o cose.
- Altri problemi: che racchiude gli item non riferibili a nessuna delle scale precedenti.

Come nel caso della CBCL 1½-5, queste scale sindromiche sono a loro volta raggruppate in ulteriori scale di problematicità globale, per ottenere il profilo dei problemi internalizzanti, esternalizzanti e totali.

Nella CBCL 6-18 sono inoltre riportate 4 scale sulle competenze:

- attività: che raccoglie i punteggi relativi a sport o altre attività ricreative e lavori, valutando in maniera qualitativa e quantitativa la partecipazione del bambino alle varie attività;

- competenze sociali: sono valutate raccogliendo punteggi relativi al comportamento del bambino da solo e con gli altri, al fatto che frequenti o meno gli amici o che partecipi ad attività organizzate;
- competenze scolastiche: sono valutate considerando aspetti come le performance nelle materie accademiche, eventuali bocciature, problemi scolastici.
- competenze totali: questa scala è ottenuta dalla somma dei punteggi nelle tre scale precedenti, somma che viene poi tradotta in percentili e confrontata coi valori di riferimento.<sup>476 477 478 479</sup>

## **5.2 Parenting Stress Index (PSI) o Indice dello Stress Genitoriale**

Il Parenting Stress Index (PSI) o Indice dello Stress Genitoriale, è un questionario auto-somministrato rivolto ai genitori, elaborato da R. R. Abidin nel 1995. Il PSI è uno strumento clinico e di ricerca che si propone di identificare precocemente quei sistemi di relazione genitore-figlio sottoposti a situazioni di forte stress, e nei quali vi è il rischio che si sviluppino comportamenti genitoriali disfunzionali e problemi comportamentali ed emotivi da parte dei bambini. Tale strumento si basa sull'assunto che livelli troppo elevati di stress all'interno del sistema parentale possano essere considerati come l'esito congiunto di determinate caratteristiche del bambino, del genitore stesso e di una serie di situazioni strettamente legate al ruolo di genitore, e che tali eccessivi livelli di stress possano ostacolare il corretto sviluppo emozionale e comportamentale del bambino, nonché per il corretto sviluppo di una relazione positiva con i genitori.

Nel nostro studio è stata utilizzata la forma breve del PSI (PSI - SF), la quale è costituita da 36 items, al posto dei 120 items della scala PSI estesa. Tutti gli item della *short form* sono contenuti nella forma estesa e sono in essa formulati con le stesse parole. La PSI – SF è stata sviluppata per venire incontro alle necessità dei clinici e dei ricercatori che usavano regolarmente la PSI estesa, di avere uno strumento valido, affidabile e versatile, che consentisse loro di misurare il livello di stress genitoriale in meno di 10 minuti. Il test è autosomministrato, e il genitore, posto di fronte ai 36 items, deve indicare il suo grado di accordo nei

confronti di ciascuno di essi secondo la scala di Likert, potendo scegliere tra 5 differenti possibili risposte che variano da “l’essere in forte accordo” con l’asserzione, a “l’essere in forte disaccordo” nei confronti della stessa. Dal conteggio delle risposte date dal genitore, standardizzate in percentili secondo diverse fasce di età (1mese - 2,11 anni; 3 - 5,11 anni; 6 - 8,11 anni; 9 anni e oltre;), si ottengono dei profili articolabili in 3 specifiche sottoscale, nelle quali sono raggruppabili i 36 items della forma breve. Queste sottoscale misurano le principali componenti del sistema genitore-bambino, focalizzando l’attenzione:

- sul genitore, PD = Distress genitoriale -12 item: definisce il livello di stress che un genitore sta sperimentando nel suo ruolo genitoriale, derivante da fattori personali collegati a tale ruolo. La componente di stress associata con la sottoscala PD è ricollegabile ad esempio al fatto che l’individuo ritenga scarse le proprie competenze di genitore, oppure che esse siano state sottoposte a delle restrizioni, oppure al fatto che ci sia uno scarso supporto sociale alla famiglia, o che si sia instaurata una situazione di conflitto con l’altro genitore;
- sul bambino, DC = Bambino difficile -12 item: focalizzata su alcune caratteristiche fondamentali del comportamento del bambino, che lo rendono facile o difficile da gestire e che hanno spesso origine nel suo temperamento;
- sulle loro interazioni P-CDI = Interazione genitore-bambino disfunzionale - 12 item: focalizzata sulla relazione tra il genitore e il bambino. In particolare sul fatto che il genitore percepisce il figlio come non rispondente alle proprie aspettative e che le interazioni con il bambino non lo rinforzano nel suo ruolo di genitore. Elevati punteggi in questa area indicano che il legame genitore-bambino è minacciato o che non è mai stato adeguatamente stabilito.
- sulla Risposta difensiva: valuta il grado con cui il soggetto risponde al questionario con la tendenza a dare una più favorevole immagine di sé, per minimizzare lo stress e i problemi nella relazione col figlio.
- sullo Stress totale: dall’insieme degli item è infine possibile ottenere anche un punteggio di totale, dato dalla somma delle tre aree precedentemente

esposte PD, P-CDI, e DC; che fornisce un'indicazione globale del livello complessivo di stress genitoriale che un individuo sta sperimentando. Va però sottolineato che lo stress totale così ottenuto non include lo stress associato ad altri ruoli o eventi che non siano strettamente connessi con il ruolo di genitore. <sup>480 481</sup>

### **5.3 Symptom Checklist-90-Revisited (SCL-90-R)**

La Symptom Checklist-90-Revisited (SCL-90-R)<sup>482</sup> è un questionario psicométrico autosomministrato a 90 item che valuta la salute globale psicofisica dell'adulto. Nella sua edizione iniziale degli anni Settanta (SCL-90), questo strumento è stato elaborato per studiare la configurazione di sintomi psicologici di pazienti psichiatrici, pazienti internistici e soggetti non clinici. Tale scala è stata anche utilizzata a scopo di ricerca per misurare i progressi e gli outcome di trattamenti psichiatrici e psicologici. Rivisto nel 2011, dopo una serie di modifiche relative ad alcuni item inadeguati della forma iniziale, l'SCL-90-R è una misura dello stato dei sintomi psicologici che un paziente presenta in uno specifico momento, o meglio, nella settimana precedente alla compilazione del questionario. Il soggetto deve rispondere a 90 item a cui deve attribuire un punteggio a 5 punti della scala Likert (1-5) da "Per niente" a "Moltissimo", a seconda di quanto ha provato quel determinato sintomo (es. mal di testa, nervosismo o agitazione interna, sentirsi il cuore in gola, paura degli spazi aperti, sentimenti di inferiorità, senso di fastidio quando gli altri la guardano o parlano di lei...) nel corso dell'ultima settimana. Il questionario non è interessato a cogliere le motivazioni per cui il soggetto avverte il sintomo, ma semplicemente se lo presenta o meno; è infatti un test psicologico di tipo quantitativo più che qualitativo.

Gli item della SCL-90-R afferiscono a 9 dimensioni sintomatologiche primarie:

- Somatizzazione (SOM): riflette il disagio derivante dalla percezione di disfunzioni corporee. I sintomi si focalizzano sugli apparati cardiovascolare, gastrointestinale, respiratorio e altri sistemi con forte mediazione autonoma. Comprende anche dolore e disagio a carico della muscolatura grossolana e altri equivalenti somatici dell'ansia.

- Ossessività – compulsività (O-C): include i sintomi necessari per formulare diagnosi di Disturbo Ossessivo Compulsivo del DSM-IV; si focalizza infatti su pensieri, impulsi e azioni che vengono sperimentati come persistenti e irresistibili e che sono di natura egodistonica o indesiderati. Sono inclusi in questa dimensione anche comportamenti relativi a un più generale deficit della prestazione cognitiva.
- Ipersensibilità interpersonale (I-S): si focalizza su sentimenti di inadeguatezza e inferiorità, in particolare a confronto con altre persone. Sono manifestazioni caratteristiche di questa sindrome l'autosvalutazione, i dubbi su di sé e un marcato disagio nelle relazioni interpersonali.
- Depressione (DEP): i sintomi relativi all'umore e agli affetti disforici sono riportati quali espressione di ritiro di interesse nella vita, mancanza di motivazione e perdita di energia vitale. Sono inoltre inclusi sentimenti di disperazione, pensieri suicidari e altri correlati cognitivi e somatici della depressione.
- Ansia (ANX): sono inclusi segni generali di ansia quali nervosismo, tensione, tremori, così come attacchi di panico e sentimenti di terrore, apprensione e paura.
- Ostilità (HOS): riflette pensieri, sentimenti o azioni che sono caratteristici di uno stato affettivo negativo di rabbia, aggressività, irritabilità e rancore.
- Ansia fobica (PHOB): viene definita come una risposta persistente di paura per una specifica persona, uno specifico luogo o una specifica situazione, la quale viene riconosciuta come irrazionale e sproporzionata allo stimolo e conduce a comportamenti di evitamento e di fuga.
- Ideazione paranoide (PAR): rappresenta fundamentalmente il comportamento paranoide come una modalità di pensiero disturbata fondata su proiezioni, ostilità, sospettosità, grandiosità, riferimento a sé, paura di perdita dell'autonomia e deliri.
- Psicoticismo (PSY): include sintomi indicativi di uno stile di vita introverso, isolato, schizoide e al contempo sintomi tipici dei quadri psicotici come la schizofrenia, quali allucinazioni e disturbi del contenuto



del pensiero. Tale dimensione riflette un continuum che oscilla da una moderata alienazione interpersonale fino alla vera e propria psicosi.

Vi sono poi tre indici globali, che sono stati creati per fornire maggiore flessibilità nella valutazione complessiva dello stato psicopatologico del paziente e disporre di indicatori di gravità sintomatologica e di disagio psichico. La funzione di ognuno di questi indici generali è, infatti, quella di comunicare l'intensità e la profondità del disagio psicologico del soggetto.

Essi sono:

- Indice di gravità generale (GSI): è il migliore indice generale dell'intensità o della profondità attuale dei disturbi psicologici del soggetto. Coniuga la numerosità di sintomi alla quantità in cui i singoli sintomi sono percepiti.
- Totale sintomi positivi (PST): è un indice dell'intensità sintomatologica.
- Indice dello stress da sintomi positivi (PSDI): è una misura della varietà del quadro sintomatologico.

Il test non rappresenta una misura di personalità, per quanto, in maniera indiretta, alcune tipologie di personalità e i disturbi di Asse II del DSM-IV possano presentare un profilo caratteristico sulle 9 dimensioni sintomatologiche appena descritte. Il test è stato elaborato con un linguaggio semplice e di uso comune, anche se è necessario un livello scolastico secondario di I grado per poter comprendere appieno le sfumature di alcune domande relative ai vissuti o ai pensieri provati. Qualora il soggetto non avesse le competenze linguistiche per compilare il test, esso può essere somministrato da un operatore che, spiegandone il contenuto, ne permetta la compilazione. Occorrono tra i 15 e i 30 minuti per la compilazione del questionario. Uno dei principali vantaggi del test è che fornisce velocemente un profilo sintomatologico sia unidimensionale che multidimensionale del soggetto.

## **6. ANALISI STATISTICHE**

I dati sono stati informatizzati mediante Database Access.

Inizialmente è stata condotta un'analisi di tipo descrittivo univariata e bivariata. Si sono analizzati i risultati relativi alla casistica cortisolo, che verteva sugli

indicatori di profilo biochimico di 43 casi che hanno effettuato le misurazioni del cortisolo salivare come precedentemente descritto. Per l'analisi dei valori di cortisolo sono state utilizzate statistiche non parametriche, laddove necessario con distribuzioni in percentili, in virtù della distribuzione non normale dei valori. Si è utilizzato il programma Excel che grazie alle tabelle pivot e alle sue funzioni di calcolo ha permesso di analizzare le variabili che interessavano lo studio e di produrre le tabelle e i grafici riportati. Sono stati usati i grafici a dispersione, anche con l'interpolazione di una funzione (esponenziale), che rappresentava analiticamente i dati disponibili oltre che grafici a barre e a curve attuariali di Kaplan-Meier. Sono state studiate inoltre le associazioni tra i valori della *Cortisol Awakening Response* (CAR) e alcune variabili diagnostiche attraverso analisi bivariate: sesso, cronicità, precocità, severità, comorbidità e numero di diagnosi. La cronicità è stata definita come una condizione di maltrattamento che perdurava da più di 1 anno; la precocità come una forma di maltrattamento manifestatasi prima dei 3 anni di età; la severità come un quadro generale di peculiare gravità; la comorbidità nei casi in cui il bambino aveva più di una diagnosi di maltrattamento.

Successivamente è stato valutato il profilo di indicatori funzionali di 94 pazienti afferiti al Centro dal 2011 e il 2014, ai genitori dei quali è stato somministrato il test psicologico CBCL nelle forme 1,5-5 anni e 6-18 anni. Sono stati considerati i profili forniti dal test compilato dal caregiver principale del bambino. Si è poi valutata l'associazione del profilo funzionale del bambino: dapprima, con i livelli di stress genitoriale, misurato attraverso il test psicologico PSI (78 casi), nelle sue cinque scale di Parent, Interaction, Child, Difesa, Totale; in seguito, con lo stato di salute psicologica del genitore misurata attraverso il test psicologico SCL-90-R (60 casi), nelle sue 9 scale di Somatizzazione, Depressione, Ansia fobica, Disturbo Ossessivo-Compulsivo, Ansia, Ideazione paranoide, Sensibilità nei rapporti interpersonali, Ostilità e Gravità totale.; infine, con il funzionamento biochimico del bambino, determinato tramite la misurazione del cortisolo salivare (28 casi). I risultati sono stati riportati mediante tabelle di frequenza (numerosità e percentuale) e grafici a dispersione, diagrammi a barre, aerogrammi.

Sono state effettuate, inoltre, delle analisi multivariate per individuare i fattori predittivi e maggiormente caratterizzanti i quadri clinici gravi del bambino, così come determinati dalla valutazione clinico-diagnostica (Y=gravità). Sono state condotte quattro analisi di regressione logistica mediante tecnica *stepwise* (SLE=0,20 e SLS=0,15). Nella prima analisi sono stati considerati come possibili predittori del funzionamento clinico del paziente: le caratteristiche individuali del soggetto (sesso, età, etnia), il tipo di diagnosi (suddivise in: maltrattamento fisico, abuso psico-emozionale, patologia delle cure, abuso sessuale), la cronicità, la precocità, la severità e la comorbidità (così come già definite precedentemente), il maltrattamento intra- o extra-familiare (laddove il maltrattamento avveniva da parte della madre, del padre, di entrambi i genitori o da figure esterne al nucleo familiare ristretto). Nella seconda analisi sono stati considerati come possibili predittori le variabili entrate nel primo modello e quelle relative al profilo di stress genitoriale, come rilevato dal PSI nelle sue cinque scale (Parent, Interaction, Child, Difesa, Totale), e al profilo di salute psicologica del genitore, come rilevato dal SCL-90-R nelle sue 9 scale (Somatizzazione, Depressione, Ansia fobica, Disturbo Ossessivo-Compulsivo, Ansia, Ideazione paranoide, Sensibilità nei rapporti interpersonali, Ostilità e Gravità totale) e nella variabile della Negazione determinata clinicamente. Nella terza analisi sono state considerate le variabili entrate nel secondo modello e quelle risultanti dal profilo funzionale del bambino, come rilevato dalla CBCL nelle sue 3 scale globali (Internalizzante, Esternalizzante, Totale). Nell'ultima analisi, sono state considerate le variabili entrate nel terzo modello ed è stato introdotto l'indicatore di profilo biochimico del paziente, misurato attraverso CAR, distinta nelle 3 tendenze riscontrate: negativa, positiva o piana. Per ciascuna analisi di regressione logistica sono stati riportati i coefficienti, gli Odds Ratio (ORs) con i corrispondenti intervalli di confidenza al 95% (IC95%), la significatività e gli indicatori di bontà del modello. Sia le analisi descrittive che multivariate sono state eseguite mediante package statistico SAS Versione 9.3 e i risultati sono stati rappresentati graficamente con Microsoft Excel.

## 6.1 Analisi di regressione logistica

L'analisi logistica studia l'andamento di una variabile dipendente o caratterizzante in funzione di una serie di variabili esplicative o predittori, o meglio di un vettore costituito da una selezione di esse. La variabile di risposta è di tipo dicotomico, presente o assente, mentre le esplicative possono essere indifferentemente loro pure dicotomiche, oppure qualitative a più modalità o quantitative. La stima dei parametri o predittori selezionati avviene con il metodo della massima verosimiglianza, che, tramite iterazioni di calcolo successive, permette di massimizzare la probabilità che le stime ottenute si approssimino all'insieme dei dati osservati. Il risultato dell'analisi è un modello, o algoritmo, in cui la combinazione lineare di alcune variabili esplicative, selezionate e ponderate tramite un coefficiente, determina la probabilità a priori assegnata a ciascun soggetto che si verifichi o meno l'evento o variabile risposta. Per il calcolo di tale probabilità è sufficiente moltiplicare il valore assunto nel soggetto da ciascuna variabile predittore selezionata per il proprio coefficiente e combinarli tra loro. Poiché le variabili esplicative introdotte in analisi, e quindi i determinanti selezionati, possono essere, come abbiamo già detto, dicotomiche, quantitative o qualitative, il peso reciproco dei vari coefficienti assegnati a ciascun predittore varierà in funzione del range dei valori che la variabile predittore può assumere. Infatti se la variabile predittore è dicotomica, (0-1) il contributo massimo nell'algoritmo che essa può dare sarà quello descritto dal suo coefficiente (o stima del parametro), poiché sarà moltiplicata per 0 o per 1, invece se la variabile è quantitativa il contributo massimo che potrà dare sarà dipendente dalla sua scala di misura.

E' possibile valutare la significatività complessiva del modello, oltre che quello di ciascun parametro stimato in esso introdotto. Attraverso l'analisi di regressione logistica è possibile ottenere gli Odds Ratio (OR) che rappresentano una misura di associazione ampiamente utilizzata in epidemiologia poiché approssima quanto è più probabile per un *outcome* essere presente fra i soggetti con  $x=1$  rispetto a quelli con  $x=0$ . Questa interpretazione per l'OR deriva dal fatto che, quando si studiano eventi rari, tale misura approssima una quantità nota come Rischio Relativo (RR).

La metodica *stepwise* consiste nell'introdurre in analisi una variabile esplicativa alla volta, selezionata in modo da essere quella che provocava il maggiore aumento della verosimiglianza rispetto al modello del passo precedente o all'uso della sola intercetta, se si tratta della prima variabile immessa. Ogni volta che una nuova variabile viene immessa nel modello (e ad ogni nuovo passo dell'analisi) si rivalutano tutte le stime dei parametri precedentemente introdotti e si ridefiniscono le loro significatività. Infatti possono esserci fenomeni di potenziamento tra più predittori o di diluizioni della capacità di predire tra estimatori diversi. Un livello soglia di significatività di ingresso (SLE=*Significance Level for Entry*) e di eventuale uscita (SLS=*Significance Level for Stay*), che vengono posti da colui che conduce l'analisi in base ad un'articolata serie di valutazioni, permette di esaurire l'analisi quando nessun'altra variabile riesce a raggiungere tale soglia per entrare nel modello.



## **RISULTATI**

In questo capitolo verranno illustrati i dati ottenuti dall'analisi degli indicatori di profilo morfologico, biochimico e funzionale della nostra casistica. Partiremo dalla descrizione dei dati ottenuti a livello biochimico in 43 pazienti afferiti al Centro per la Diagnosi del bambino maltrattato da dicembre 2013 a dicembre 2014. In seguito descriveremo i risultati ottenuti in una casistica più ampia di pazienti con diagnosi di maltrattamento minorile afferiti al Centro dal 2011 al 2014.

### **1. RISULTATI BIOCHIMICI**

Dal 2000 al 2014 al Centro regionale per la Diagnosi del bambino maltrattato sono stati seguiti 550 casi con diagnosi di maltrattamento minorile, di età compresa tra 1 mese e 18 anni. A partire da dicembre 2013, i nuovi casi afferiti al Centro hanno partecipato al protocollo di misurazione dello stress che prevedeva una valutazione degli indicatori biochimici, oltre a valutazioni funzionali e morfologiche. Sono stati reclutati 50 pazienti di età compresa tra i 4 e i 17 anni; di questi, solo 43 hanno eseguito effettivamente le misurazioni biochimiche e quindi fanno parte della casistica cortisolo. Descriveremo ora i risultati ottenuti dalle analisi descrittive, univariate e bivariate del gruppo in oggetto.

#### **1.1 Descrittiva anagrafica della casistica cortisolo**

La popolazione di pazienti dei quali sono stati tenuti in considerazione i valori di cortisolo salivare è costituito da 43 soggetti, 19 maschi (44%) e 24 femmine (56%) (Grafico 3), di età compresa tra i 4 e i 17 anni; con età media era di 9,6 anni e moda di 7anni (Grafico 4). I pazienti partecipanti allo studio presentano diverse nazionalità: italiana, italo-albanese, italo-finlandese, italo-romena, italo-albanese, camerunense, marocchina, nigeriana, burkinese, romena, moldava, rom kosovara, irachena, ucraino-marocchina. La nazionalità più largamente rappresentata nello studio era quella italiana (20%) e, a seguire, quelle marocchina (5%) e rom kosovara (5%). La multiethnicità del campione è ben illustrata nel Grafico 5

considerato il tasso di stranieri residenti nel territorio Veneto, si evidenzia un significativo tasso di stranieri nel nostro campione.

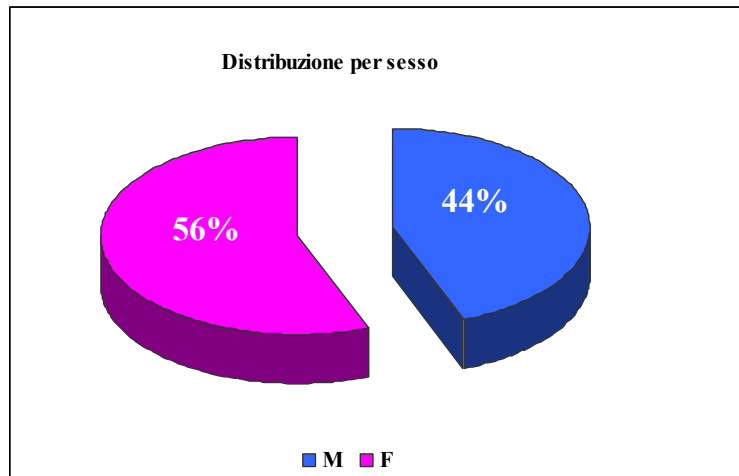


Grafico 3 - Distribuzione del parametro sesso

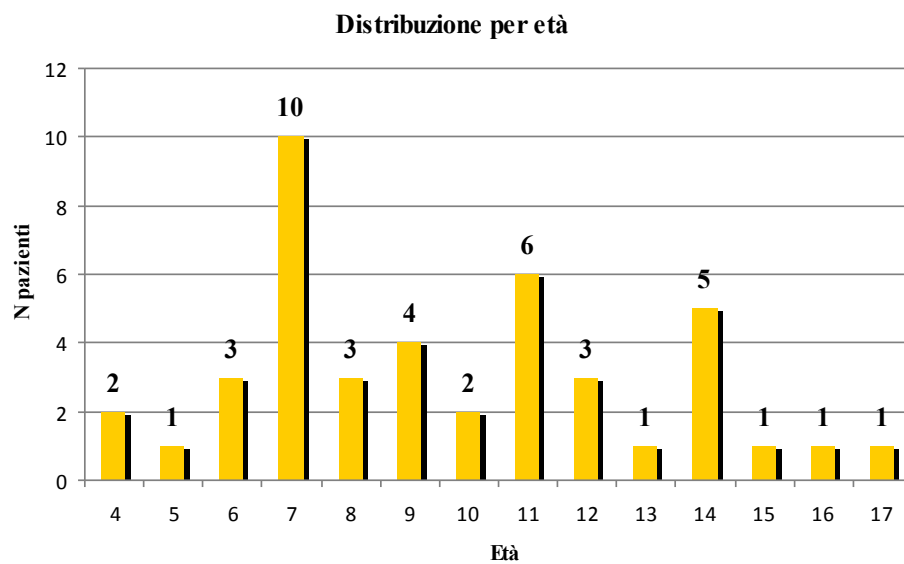


Grafico 4 – Distribuzione del parametro età



Distribuzione per nazionalità

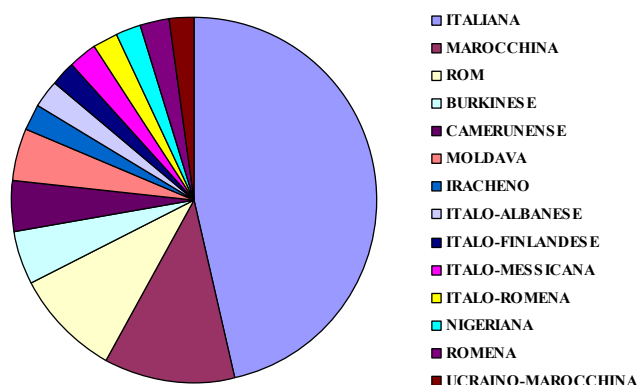


Grafico 5 – Distribuzione del parametro nazionalità

Per quanto riguarda l'inquadramento-clinico diagnostico, le diagnosi riscontrate nella casistica sono: neglect o trascuratezza grave, abuso sessuale, abuso psico-emozionale, violenza assistita, maltrattamento fisico, Shaken Baby Syndrome (SBS), sindrome di Munchausen per procura (MBPS). La diagnosi con maggior prevalenza (27%) è quella di neglect, seguita da quelle di abuso psico-emozionale (22%) e violenza assistita (20%) (Grafico 6 - Distribuzione del parametro diagnosi). Considerando il fatto che la violenza assistita è una forma specifica di abuso psico-emozionale, quest'ultimo costituisce la diagnosi più rappresentativa della nostra popolazione (42%).

Distribuzione per diagnosi

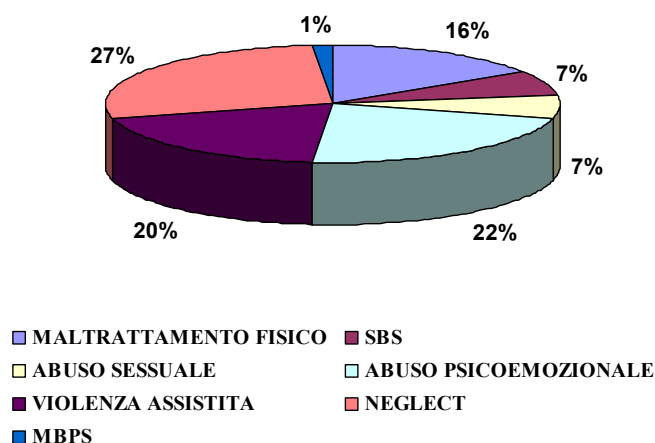


Grafico 6 - Distribuzione del parametro diagnosi

Sempre in riferimento all'inquadramento clinico-diagnostico, sono state assegnate a ciascun paziente delle variabili che abbiamo ritenuto essenziali considerare per meglio comprenderne il quadro clinico generale: cronicità, precocità, severità, comorbidità. Per quanto riguarda tali parametri, nella nostra casistica: il 65% di pazienti presenta un quadro cronico (Grafico 7– Distribuzione del parametro cronicità); il 63% ha un esordio precoce (Grafico 8 – Distribuzione del parametro precocità); il 56% presenta un quadro severo di maltrattamento (Grafico 9) il 42% dei pazienti ha per più forme di maltrattamento (Grafico 10).

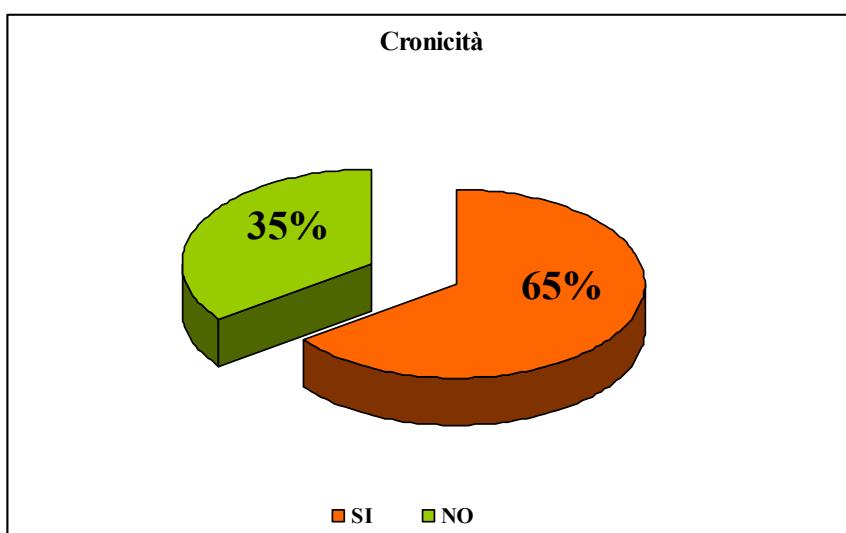


Grafico 7– Distribuzione del parametro cronicità

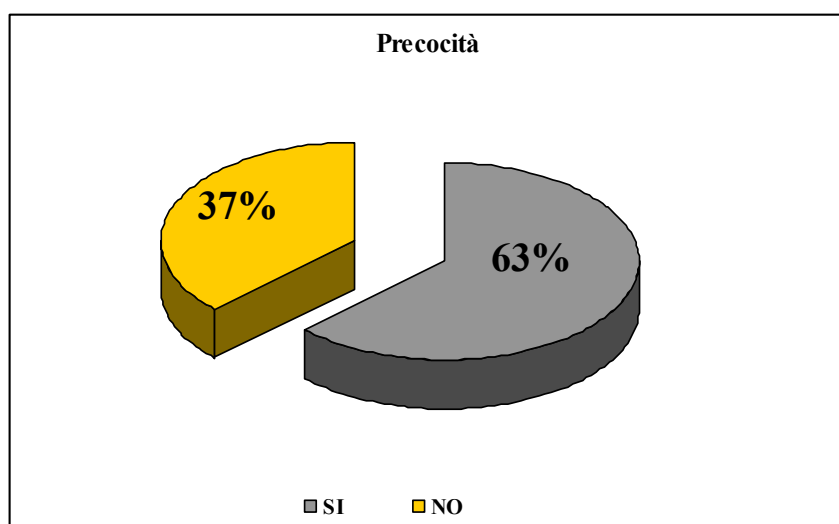
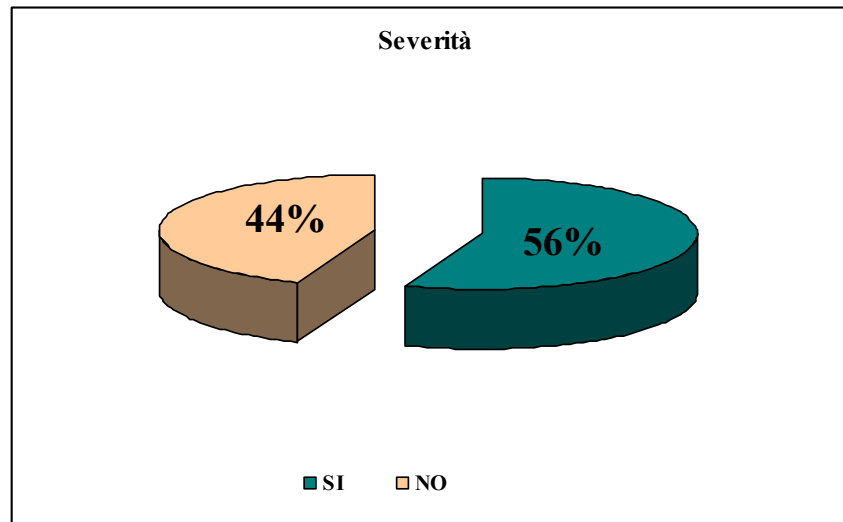
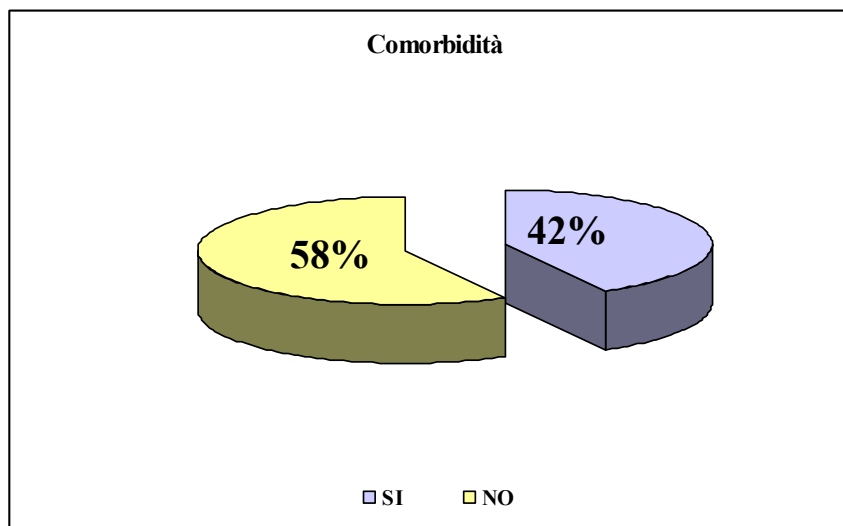


Grafico 8 – Distribuzione del parametro precocità

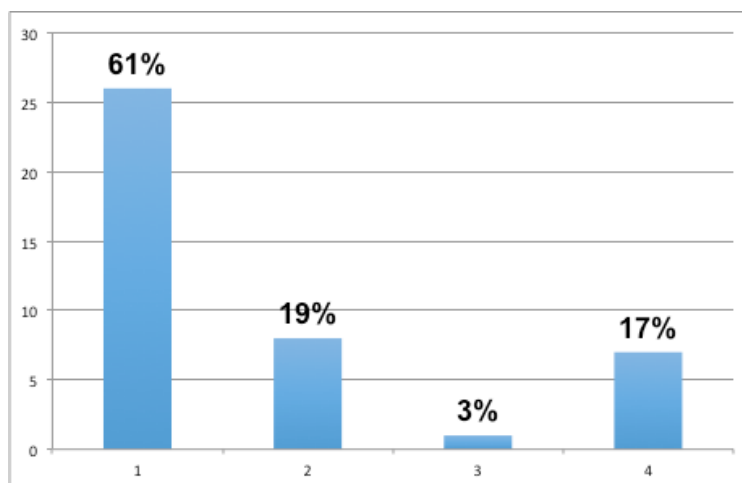


**Grafico 9 – Distribuzione del parametro severità**



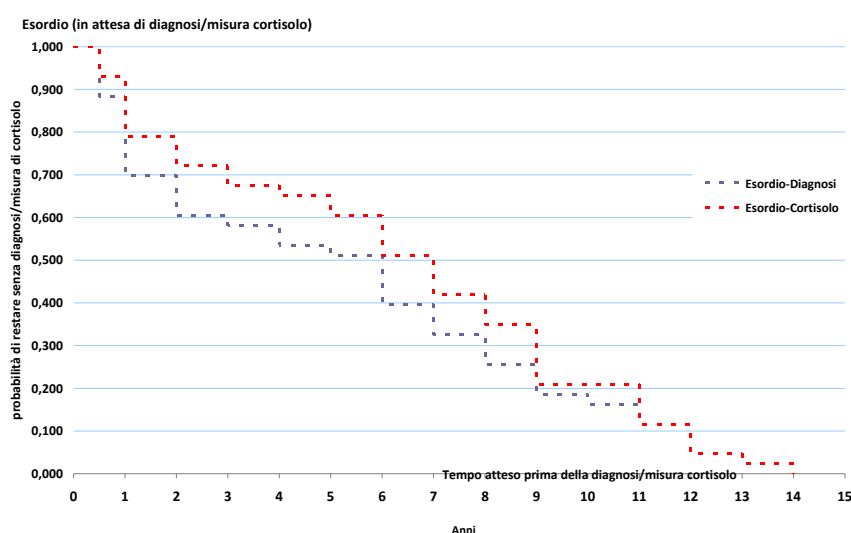
**Grafico 10 – Distribuzione del parametro comorbidità**

In riferimento o alla comorbidità è stata inoltre osservata la distribuzione per numero di diagnosi: il 61% ha 1 diagnosi, il 19% ne ha 2, il 3% ne ha 3 e il 17% ne ha 4 (Grafico 11 – Distribuzione per numero di diagnosi a paziente).



**Grafico 11 – Distribuzione per numero di diagnosi a paziente**

Si è ritenuto importante considerare l'intervallo di tempo intercorso tra il primo episodio di maltrattamento occorso, la presa in carico diagnostica e la misurazione del funzionamento biochimico del paziente. Il 30% dei pazienti ottiene la diagnosi entro 1 anno dall'esordio del maltrattamento, il 50% entro 6 anni, l'80% entro 9 anni. Il 20% dei pazienti effettua la misurazione biochimica entro 1 anno dall'esordio del maltrattamento, il 50% entro 6 anni, l'80% entro 9 anni, il 100% entro 14 anni (Grafico 12 – Tavola attuariale relativa agli intervalli di tempo tra il primo episodio di maltrattamento, la presa in carico diagnostica e la misurazione di cortisolo).

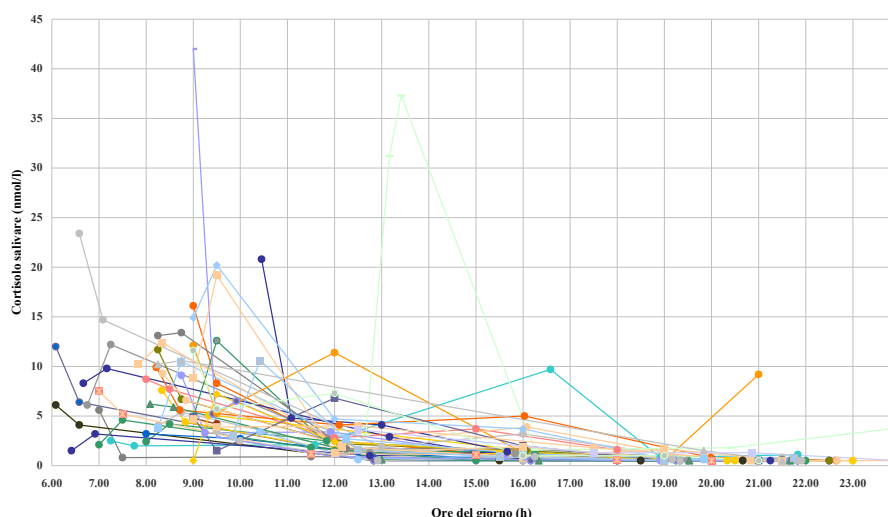


**Grafico 12 – Tavola attuariale relativa agli intervalli di tempo tra il primo episodio di maltrattamento, la presa in carico diagnostica e la misurazione di cortisolo**

## 1.2 Analisi descrittiva dell'andamento del cortisolo

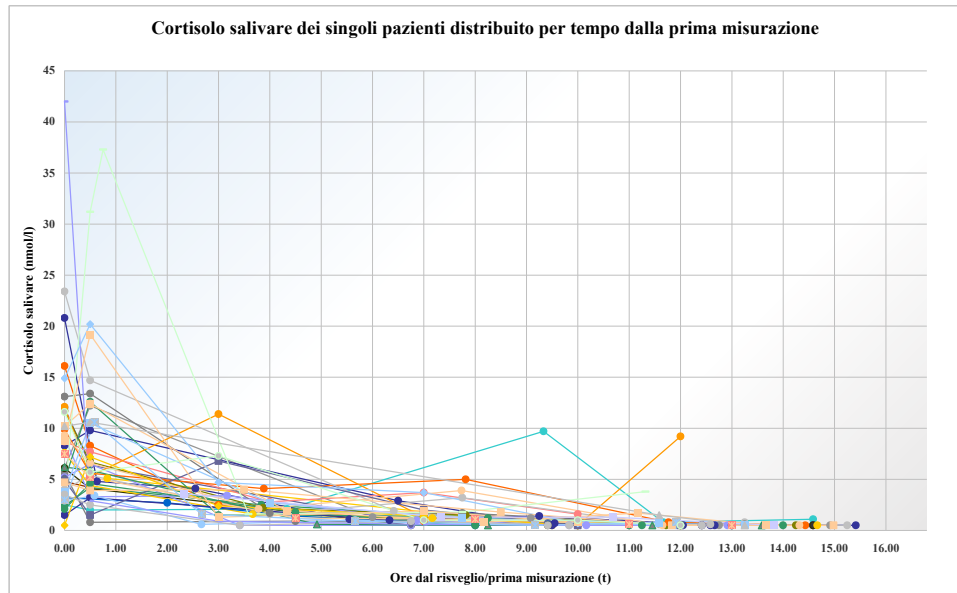
I valori circadiani di cortisolo salivare della nostra casistica sono stati analizzati considerando le diverse prospettive possibili. Innanzitutto, si sono considerate singolarmente le 6 misurazioni relative ad ogni singolo paziente (identificato da un apposito codice ID) e mantenendo la variabile tempo espressa in orari scalari (Grafico 13 - Valori circadiani di cortisolo salivare considerati singolarmente, mantenendo la variabile tempo espressa in orari scalari. Ad ogni linea corrisponde un soggetto, identificato da uno specifico codice identificativo.). I valori ottenuti presentano un'ampia variabilità nelle prime ore del giorno, e un progressivo uniformarsi degli andamenti in fase pomeridiana e serale. Il valore massimo riscontrato è di 42,0 nMol/l che insieme ad alcuni altri valori (31,2 nMol/l; 23,4 nMol/l) rappresenta un picco considerevole rispetto ai valori di riferimento del cortisolo di soggetti sani che sono compresi tra 3,0 e 20 nMol/l. Si tratta, in questi tre casi, di valori mattutini rappresentati da C1 (misurazione al risveglio) e C2 (misurazione 30' dopo). Sono inoltre presenti alcuni picchi importanti in altre fasi della giornata in cui i livelli di cortisolo dovrebbero essere nettamente inferiori (C3=37,3 nMol/l; 11,4 nMol/l; 7,3 nMol/l e C6=9,2 nMol/l; 3,8 nMol/l). Si evidenziano inoltre alcuni valori bassi in altri soggetti, già nelle prime ore del mattino, quando i valori di cortisolo dovrebbero essere compresi tra 3,0 nMol/l e 20 nMol/l (C1= 0,5 nMol/l; 1,5 nMol/l; 2,4 nMol/l e C2= 1,5 nMol/l; 2,5 nMol/l).

Cortisolo salivare dei singoli pazienti distribuito per le ore del giorno



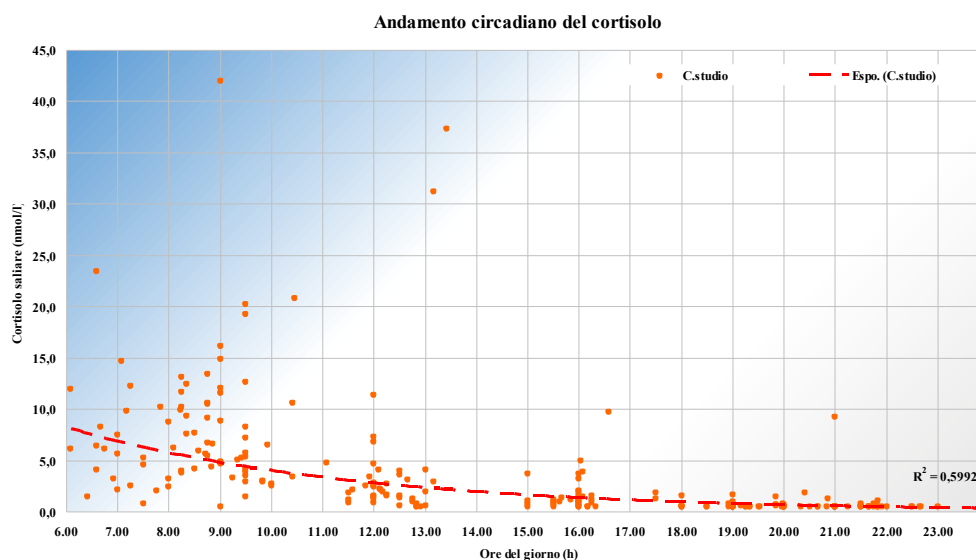
**Grafico 13 - Valori circadiani di cortisolo salivare considerati singolarmente, mantenendo la variabile tempo espressa in orari scalari. Ad ogni linea corrisponde un soggetto, identificato da uno specifico codice identificativo.**

Gli stessi valori sono stati analizzati anche tenendo in considerazione l'intervallo di tempo tra la prima misurazione e le misurazioni successive; gli andamenti circadiani dei singoli pazienti considerati per ID sono stati riordinati rispetto a un  $t_0$  comune, rappresentato dal momento del risveglio (Grafico 14). Il protocollo dello studio prevedeva, infatti, che il paziente raccogliesse i diversi campioni di cortisolo in momenti specifici della sua giornata: al risveglio (C1), 30 minuti dopo (C2), prima di pranzo (C3), a metà pomeriggio (C4), prima di cena (C5), prima di dormire (C6), segnando l'ora precisa di ogni raccolta. Ciò ha reso possibile dare un significato ai singoli orari delle diverse misurazioni e mettere in fase i ritmi circadiani dei nostri pazienti, in modo da poterli confrontare. Questa differente analisi permette di notare più facilmente i picchi relativi alle 6 differenti misurazioni giornaliere.



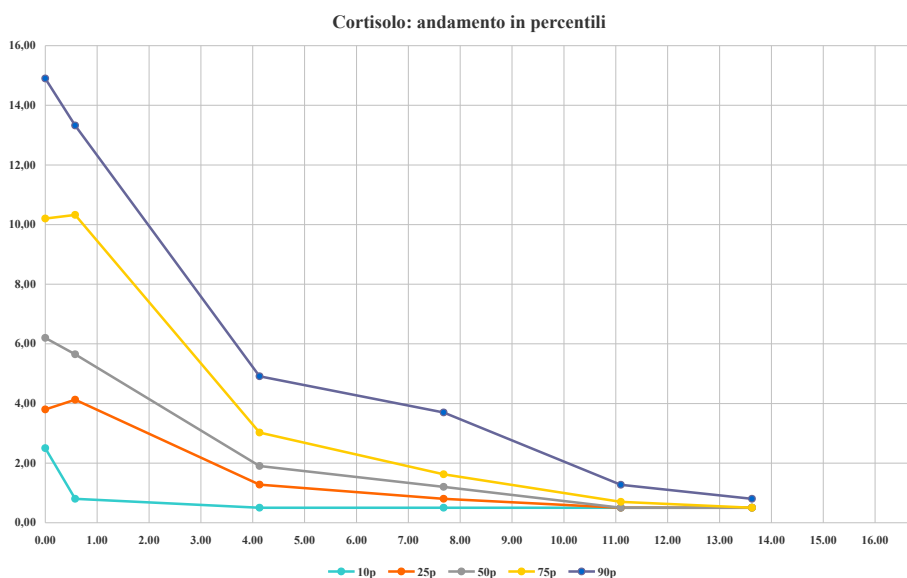
**Grafico 14 - Valori circadiani di cortisolo salivare osservati singolarmente e riordinati rispetto a un  $t_0$  rappresentato dal momento del risveglio. Ad ogni linea corrisponde un soggetto, identificato da uno specifico codice identificativo. Il tempo è espresso in ore rispetto al risveglio.**

Se, invece, si considerano i singoli valori di ciascun paziente, senza tenere conto dell'identità dei diversi soggetti, al fine di studiare la distribuzione generale dei valori di cortisolo dei pazienti con diagnosi di maltrattamento nelle diverse ore del giorno, si ottiene una linea di tendenza così come espressa nel Grafico 15. La retta rossa tratteggiata rappresenta una funzione esponenziale dei valori cortisolo espressi in nMol/l in cui il coefficiente  $R^2$  quantifica la quantità di varianza spiegata dal modello.



**Grafico 15 – Grafico a dispersione delle misure di cortisolo rispetto alle ore del giorno. Tratteggiata in rosso una funzione esponenziale dei valori di cortisolo rappresentativa del funzionamento biochimico dell'intera casistica considerata nel suo insieme.**

Di ciascuno dei 6 valori individuati per descrivere l'andamento circadiano della secrezione del cortisolo del nostro campione, abbiamo infine elaborato la distribuzione in percentili, in modo da poter osservare le diverse tendenze presenti nel nostro campione. (Grafico 16)



**Grafico 16 – Andamento circadiano in 10-25-50-75-90 percentili del cortisolo salivare dei nostri pazienti. I 6 valori raccolti per ciascun paziente sono stati ordinati rispetto ad un comune t0 rappresentato dal risveglio. Il tempo è espresso in ore rispetto al risveglio.**



Attraverso quest'analisi è stato possibile individuare un gruppo di pazienti, corrispondenti al decimo percentile, che presenta punteggi estremamente bassi di cortisolo in tutto il corso della giornata. I pazienti con punteggi nettamente superiori al range di riferimento, invece, si attenuano all'interno del novantesimo percentile.

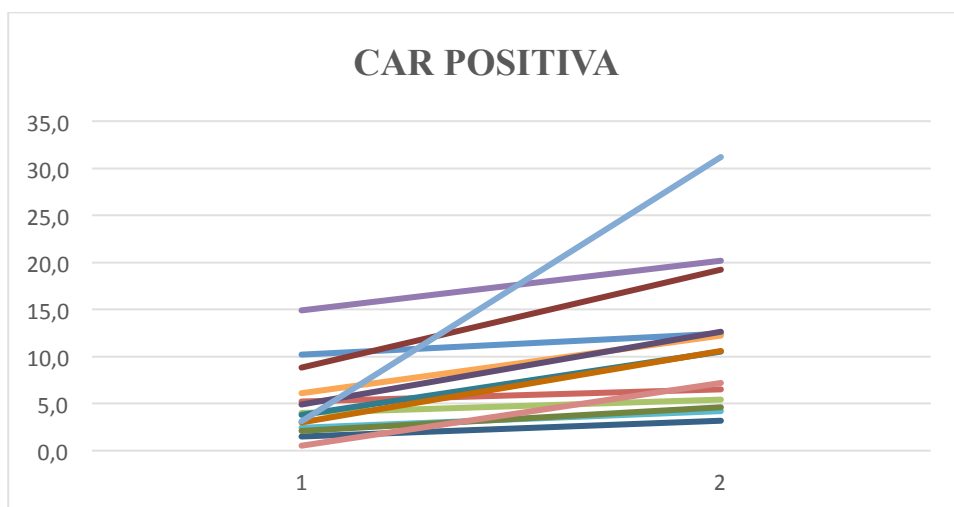
### ***1.2.1 La Cortisol Awakening Response (CAR)***

Le misurazioni mattutine del cortisolo, relative al momento del risveglio (C1) e a 30 minuti dopo lo stesso (C2), avevano anche lo scopo di studiare l'andamento della *Cortisol Awakening Response* dei nostri pazienti. Le analisi effettuate dimostrano che l'andamento di C1 e C2 medio nella nostra popolazione risulta appiattito rispetto a quello fisiologico, così come descritto in letteratura, che dovrebbe prevedere un incremento del 38-75% dei valori di cortisolo nei primi 30 minuti dal risveglio.<sup>483</sup> Su 43 pazienti, solamente 12 hanno un incremento di C1 superiore al 38% nella mezz'ora seguente; la maggior parte dei pazienti, dunque non presenta una CAR così come definita dai dati di letteratura, mostrando invece un andamento con tendenze piane o negative. Tra i 12 pazienti con CAR che presentano un aumento superiore al 38%, inoltre, solo 2 hanno un incremento tra C1 e C2 compreso entro il 75%; 10 pazienti infatti presentano un incremento eccessivo, compreso tra il 100 e il 1340%. In generale, il range di variazione percentuale dei nostri valori al risveglio spaziano da un incremento massimo del 1340% ad una riduzione massima del 93%.

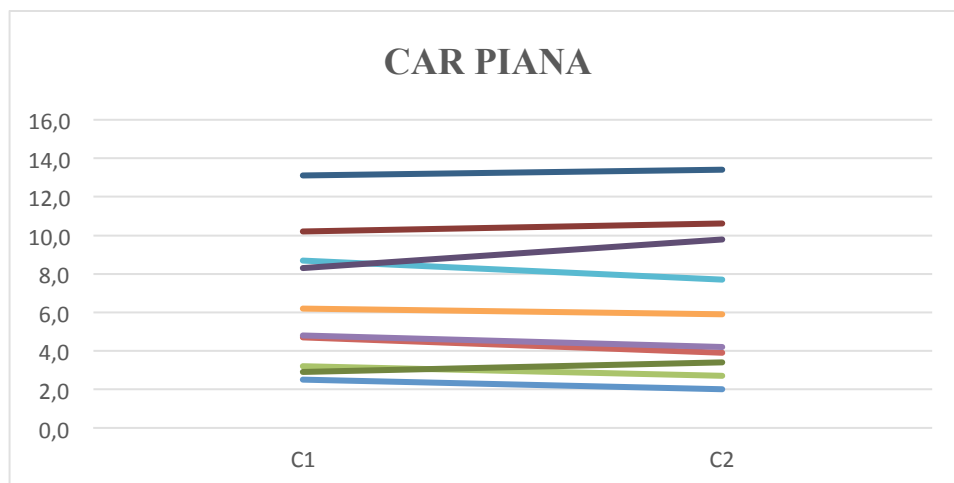
Per poter meglio studiare il fenomeno interno alla nostra casistica, abbiamo pertanto suddiviso gli andamenti delle CAR dei nostri pazienti in 3 gruppi:

- 1° gruppo, contenente le CAR con andamento positivo in cui il valore della variazione percentuale di C1 è compresa tra un aumento minimo del 21,6% e un aumento massimo del 1340% (Grafico 17);
- 2° gruppo, contenente le CAR con andamento piano in cui il valore della variazione percentuale di C1 è compresa tra una riduzione del 20% e un aumento del 18% (Grafico 18);

- 3° gruppo, contenente le CAR con andamento negativo in cui il valore della variazione percentuale di C1 è compresa tra una riduzione massima del 93% e una riduzione minima del 28% (Grafico 19).



**Grafico 17 - Andamento delle CAR positive (1°gruppo)**



**Grafico 18 - Andamento delle CAR piane (2°gruppo)**

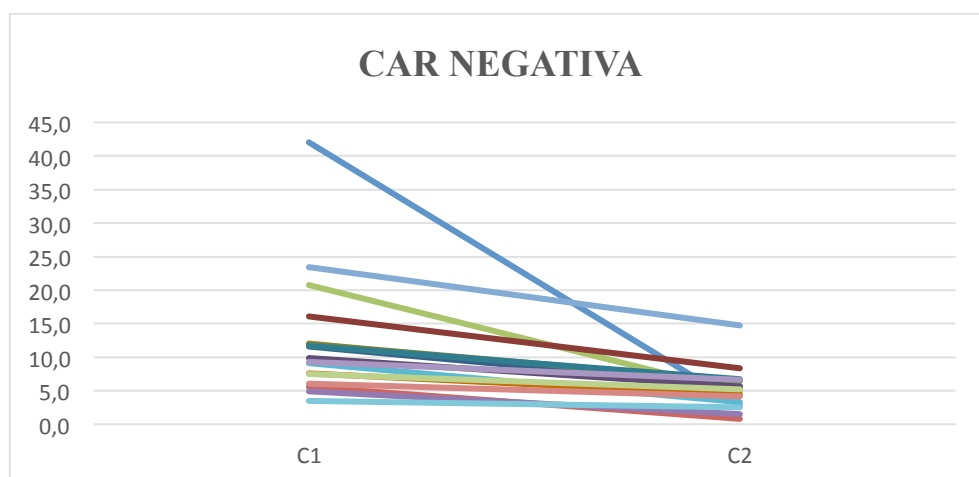
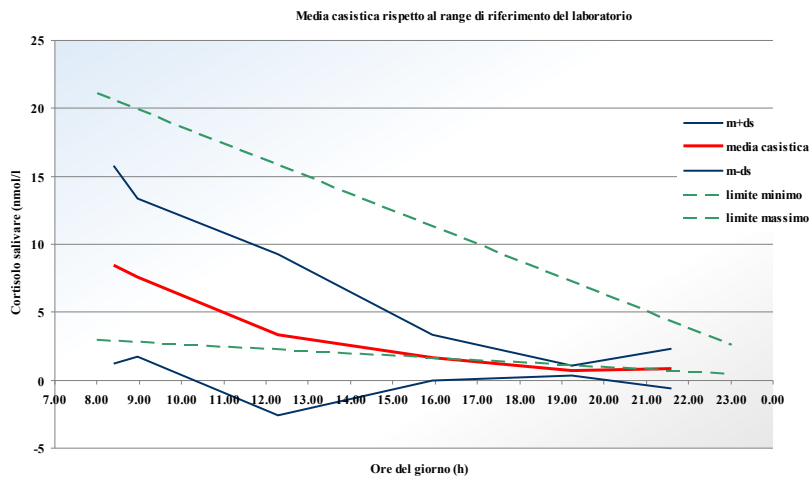


Grafico 19 – Andamento delle CAR negative (3° gruppo)

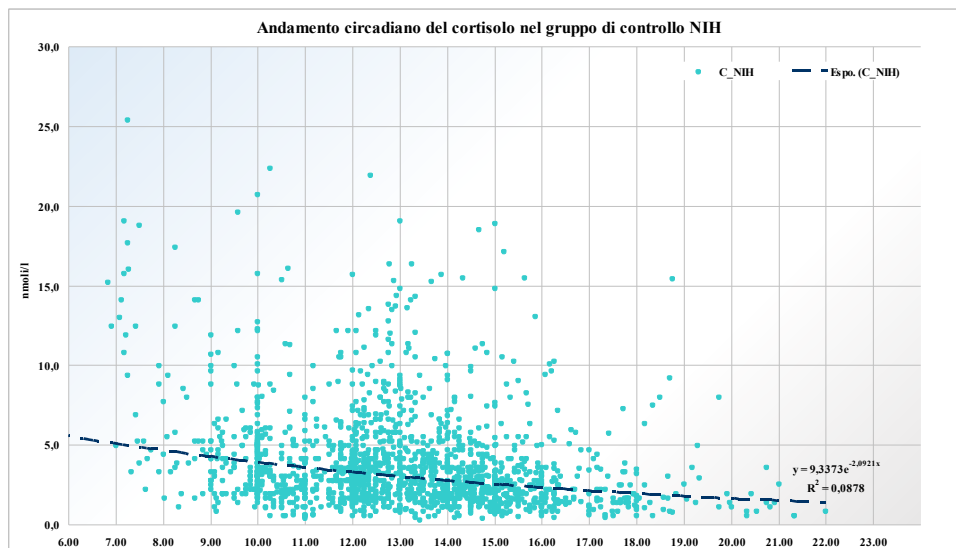
## 2.2 Confronto con i controlli sani

Considerata la grande influenza dei *device* di raccolta del campione e dei metodi laboratoristici di analisi molecolare, non esistendo in letteratura range specifici di riferimento per il cortisolo salivare in età pediatrica, ottenuti tramite l'innovativo e più preciso metodo HPLC-MS/MS utilizzato dal nostro laboratorio, considerato che lavori riportanti range pediatrici per i valori di cortisolo ematici mostrano che tali valori non sono dissimili da quelli dei soggetti adulti<sup>483</sup> e che la letteratura non è chiara nel descrivere il confronto tra i valori di soggetti adulti e pediatrici, abbiamo innanzitutto confrontato i valori dei pazienti della nostra casistica con i valori di riferimento adottati dal laboratorio dell'Azienda Ospedaliera di Padova (Grafico 20). Si può notare come i nostri valori risultino essere in tutte le fasi del giorno collocati nella fascia inferiore dei valori di riferimento, pur conservando il fisiologico andamento secondo il quale i valori più alti di concentrazione di cortisolo salivare si registrano al mattino. Si riscontra un appiattimento dei valori pomeridiani e serali che risultano in parte inferiori ai valori di riferimento dei controlli sani.



**Grafico 20 – Confronto tra i valori medi di cortisolo della nostra casistica e il range di riferimento del laboratorio dell’Azienda Ospedaliera di Padova**

Per l’interpretazione dei nostri dati abbiamo anche elaborato i dati estrapolati dallo studio longitudinale NIH MRI *Study of Normal Brain Development (Pediatric MRI Study)*. (Grafico 21)

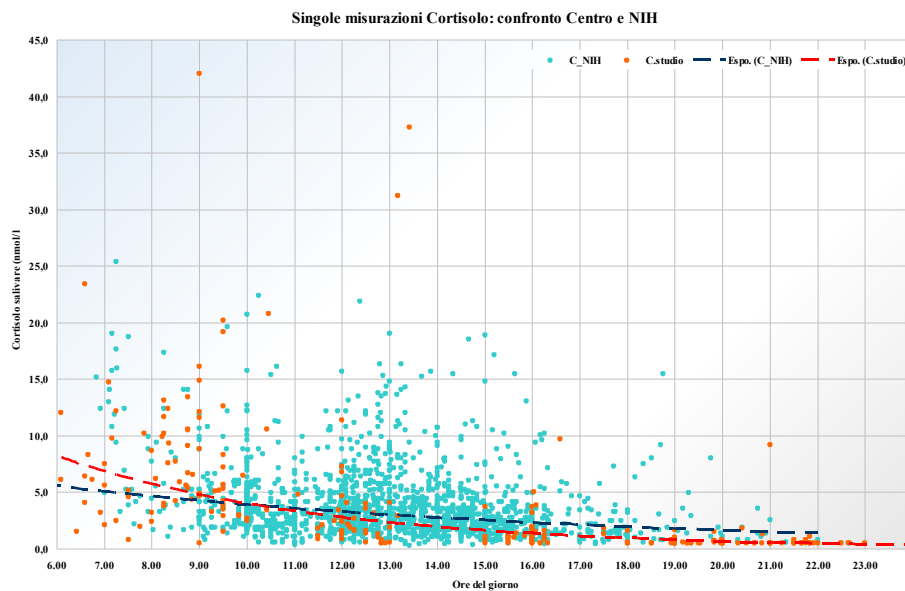


**Grafico 21 – Grafico a dispersione dell’andamento del cortisolo nella popolazione di controllo NIH i valori di cortisolo estrapolati dallo studio NIH, distribuiti per le ore del giorno. Per intersecare i dati è stata calcolata una linea di tendenza esponenziale.**

La distribuzione dei valori di cortisolo salivare, di soggetti sani dai 4 ai 18 anni, è illustrata nel grafico a dispersione sottostante, nel quale la linea di tendenza tratteggiata rappresenta una funzione esponenziale dei valori di cortisolo espressi

in nMol/l, in cui il coefficiente  $R^2$  quantifica la quantità di varianza spiegata dal modello. Il trend dei valori mostra un andamento appiattito rispetto al normale andamento circadiano del cortisolo salivare perché al mattino non è registrato alcun picco: nel protocollo di questo studio manca infatti l'indicazione a raccogliere i campioni al risveglio, escludendo quindi lo studio della CAR, che si verifica a mezz'ora dal risveglio. È quindi verosimile che gli elevati valori che il cortisolo assume la mattina siano stati trascurati da questo studio e che i risultati raccolti non siano dunque rappresentativi del fisiologico andamento circadiano della secrezione di cortisolo per quanto riguarda le prime ore dal risveglio.

Confrontando i valori NIH con quelli del nostro studio appare evidente come nelle prime ore del giorno (dalle ore 6:00 alle ore 11:00 circa) i valori dei nostri pazienti siano tendenzialmente più alti rispetto a quelli dei controlli NIH, mentre la relazione s'inverte dalle ore 11:00 circa in poi. (Grafico 22)

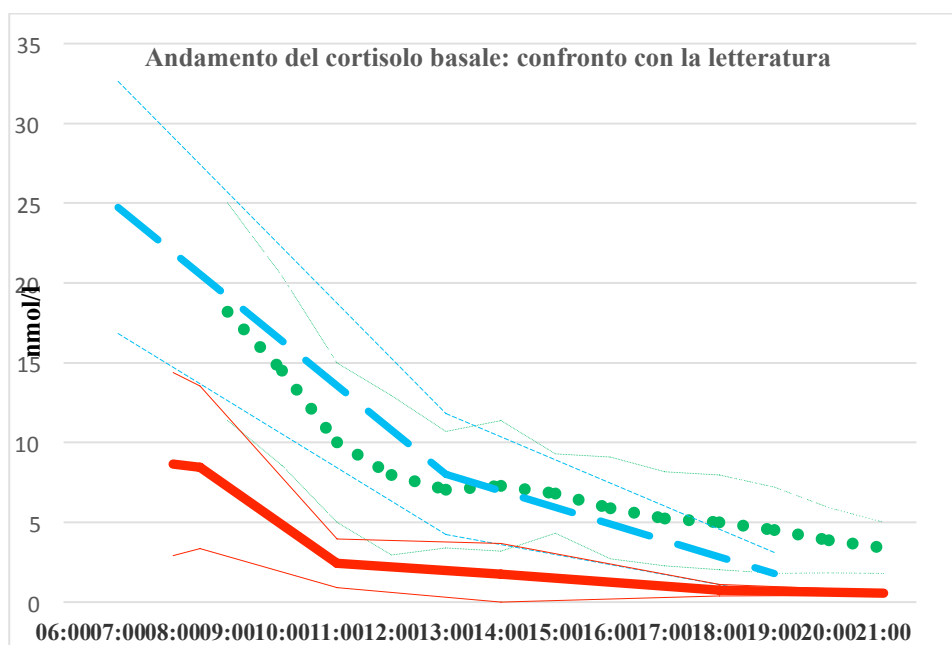


**Grafico 22 – Confronto tra la tendenza del cortisolo circadiano nella nostra popolazione (linea di tendenza rossa) e la tendenza della popolazione di controllo NIH (linea di tendenza blu).**

Tale rapporto tra le tendenze è dunque spiegabile alla luce del fatto che il nostro protocollo è appositamente studiato per registrare le entità dei picchi delle CAR (i valori massimi delle concentrazioni di cortisolo registrabili nell'arco delle 24 ore), mentre lo studio NIH non registra questi valori, ottenendo una tendenza più bassa

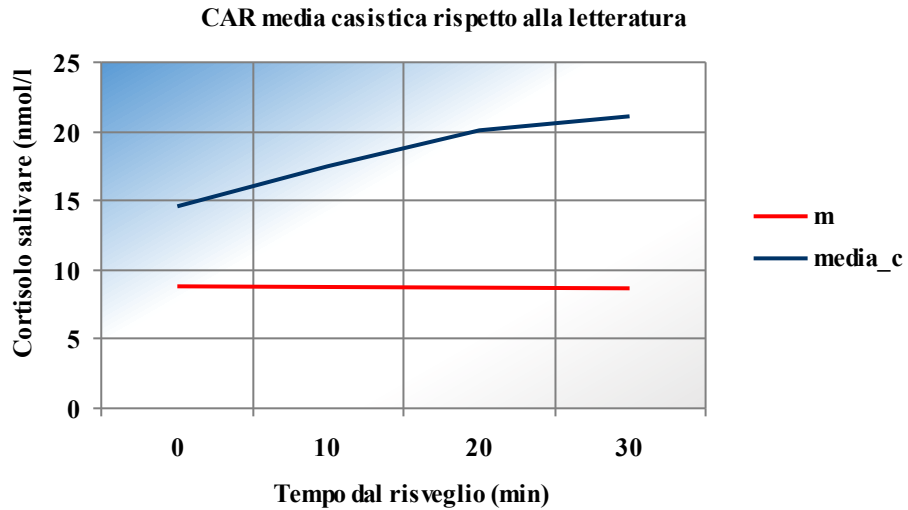
di valori mattutini. Durante le successive ore del giorno le due serie di valori sono invece confrontabili e i livelli di cortisolo dei nostri pazienti mostrano una tendenza inferiore rispetto ai controlli NIH.

Abbiamo paragonato i nostri dati anche con quelli dei 2 lavori di Kirschbaum e Hellhammer (2000)116 e Gröschl et al. (2003)183 già descritti nell'*Introduzione* e nei *Materiali e metodi*, che hanno misurato l'andamento circadiano della secrezione di cortisolo in pazienti sani, anche se i metodi di quantificazione utilizzati dal laboratorio analisi in questi studi differivano da quelli utilizzati nel nostro. Dal confronto dei valori della nostra casistica con quelli di questi lavori, si osserva che i valori della nostra popolazione si attestano su standard inferiori in tutte le ore del giorno rispetto a quelli dei due studi di riferimento (Grafico 23). Dunque, quando confrontati con studi che non trascurano l'andamento della CAR, i valori di cortisolo dei nostri pazienti risultano più bassi rispetto ai valori dei controlli sani, anche nelle prime ore del giorno.



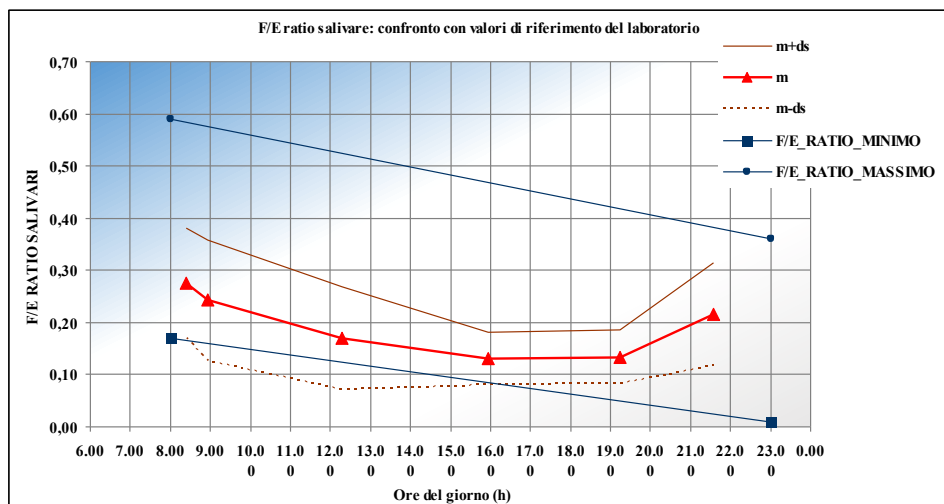
**Grafico 23 - Confronto dell'andamento circadiano medio del nostro campione con la letteratura. In rosso i valori ( $\pm 1$  ds) della nostra casistica, in blu e in verde i valori ( $\pm 1$  ds) della popolazione sana descritta nello studio, rispettivamente, di Gröschl et al. e di Kirschbaum e Hellhammer.**

Per quanto riguarda lo studio delle CAR, abbiamo effettuato un confronto con lo studio di Pruessner et al. 1997<sup>475</sup> descritto nell'*Introduzione* e nei *Materiali e metodi* (Grafico 24). Anche in questo caso i nostri valori risultano nettamente inferiori rispetto ai controlli riportati nello studio considerato.



**Grafico 24– Confronto tra la CAR media del nostro campione (linea rossa) e la CAR media di una popolazione sana descritta da Pruessner et al. 1997 (linea blu).**

Infine, i valori medi dei rapporti tra i livelli di cortisolo salivare e quelli di cortisone salivare (F/E ratio) sono stati confrontati con i range di riferimento del laboratorio analisi dell'Azienda Ospedaliera di Padova (Grafico 25).



**Grafico 25 – Andamento medio del rapporto tra la concentrazione di cortisolo e cortisone salivare nella nostra casistica (linea rossa), confrontato con i range utilizzati dal laboratorio dell'Azienda Ospedaliera di Padova (linee blu).**

Dal confronto appare che il valore medio del rapporto F/E si mantenga entro i range di riferimento, con un lieve trend di diminuzione durante le prime ore del pomeriggio. Se tale rapporto a livello salivare è considerabile indice dell'attività dell'enzima 11 $\beta$ HSD tipo 2 a livello salivare potremmo osservare che essa sembra conservata.

### 2.3 Analisi dell'associazione tra il cortisolo e alcune variabili diagnostiche

È stata eseguita un'analisi bivariata interna alla nostra casistica, tra i valori di cortisolo rappresentati sia dalla curva circadiana che dalla CAR (positiva, piana, negativa) e alcune variabili diagnostiche di particolare interesse, al fine di individuare eventuali relazioni tra le alterazioni del ritmo circadiano del cortisolo e tali parametri. I parametri presi in considerazione e già definiti nei *Materiali e Metodi* sono: cronicità, definita come una condizione di maltrattamento che perdurava da più di 1 anno; precocità, definita come una forma di maltrattamento manifestatasi prima dei 3 anni di età; la severità, definita come un quadro generale di peculiare gravità; la comorbidità, nei casi in cui il bambino aveva più di una diagnosi di maltrattamento.

Nel Grafico 26 è rappresentata la differente curva circadiana media di cortisolo per i pazienti con quadri cronici e non cronici della nostra casistica.

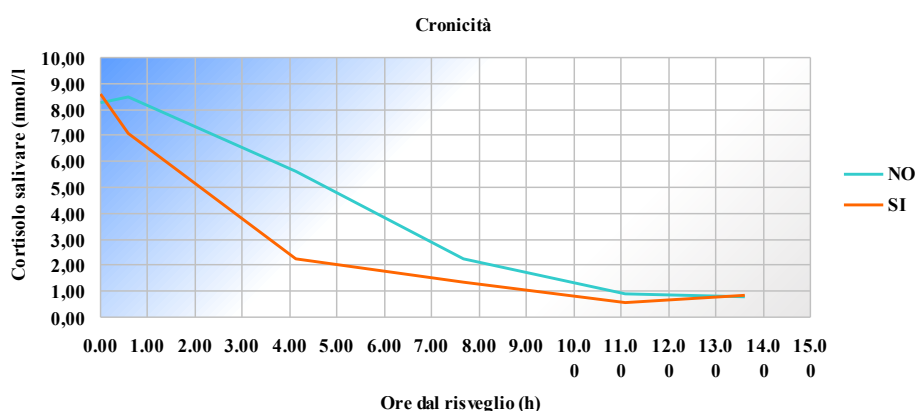


Grafico - 26- Andamento medio del cortisolo circadiano in pazienti cronici e non cronici



I pazienti con quadri cronici di maltrattamento presentano andamenti medi inferiori rispetto a quelli con quadri acuti a tutte le ore del giorno, tranne che al momento del risveglio (C1), in cui i valori corrispondono.

Nel Grafico 27 lo studio dell'associazione tra i tre diversi andamenti di CAR (positiva, piana e negativa) e la variabile cronicità mostra che in condizioni croniche la CAR più frequente è quella di tipo negativo (50%), mentre in condizioni non croniche è la CAR piana ad essere più frequente (46%). La CAR positiva, che dovrebbe rappresentare la risposta fisiologica del soggetto, è presente in percentuali simili in entrambi i sottogruppi (31% e 36%).

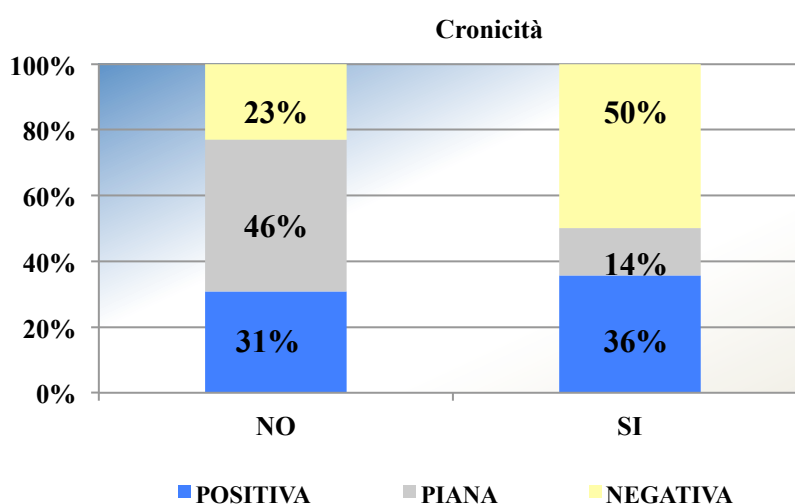


Grafico 27 – Associazione tra la CAR (positiva, negativa, piana) e la cronicità

Nel Grafico 28 è rappresentata la differente curva circadiana media di cortisolo per i pazienti con esordio precoce e non precoce della nostra casistica. I pazienti con esordio precoce di maltrattamento presentano andamenti medi inferiori rispetto a quelli con quadri acuti in alcuni momenti del giorno (C2, C3, C5) e andamenti medi superiori in altri (C1, C4).

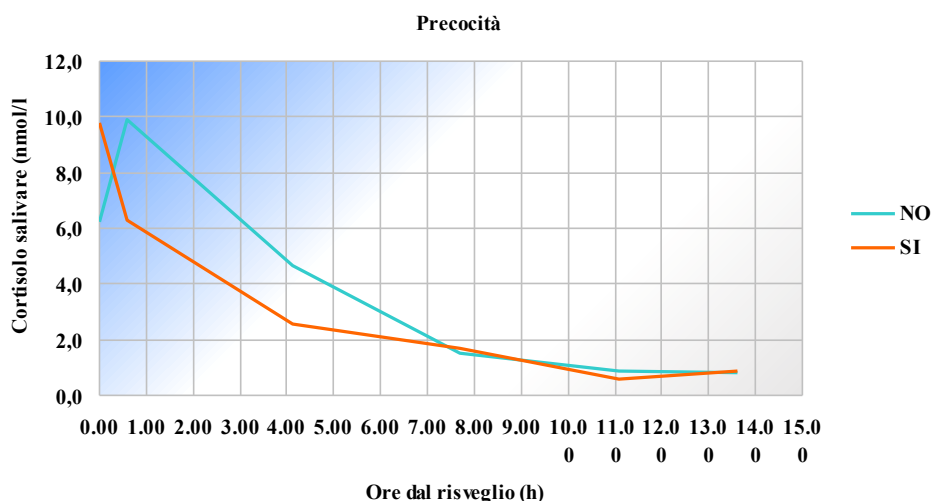


Grafico 28 - Andamento medio del cortisolo circadiano in pazienti con esordio precoce e non precoci

Nel Grafico 29 lo studio dell'associazione tra i tre diversi andamenti di CAR (positiva, piana e negativa) e la variabile precocità mostra che in condizioni di esordio precoce la CAR più frequente è quella di tipo negativo (58%), mentre in condizioni non precoci è la CAR positiva ad essere più frequente (47%) e la CAR piana ad avere comunque un'alta frequenza (40%) (Grafico 26).

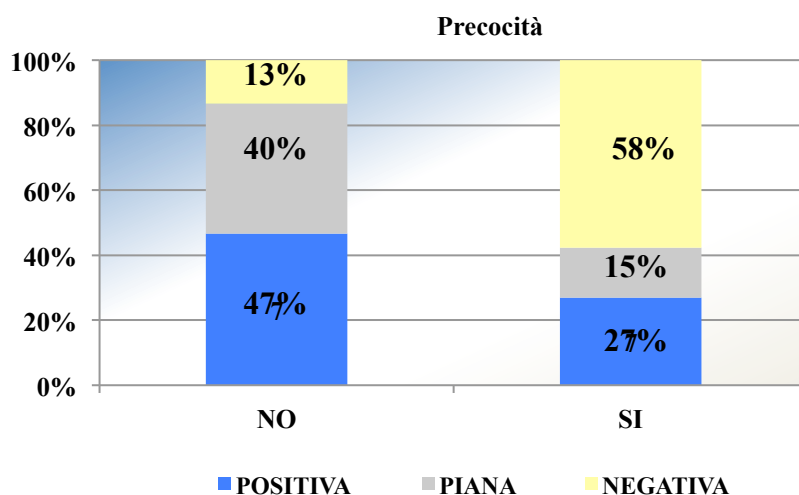


Grafico 29 - Associazione tra la CAR (positiva, negativa, piana) e la precocità

Nel Grafico 30 rappresentata la differente curva circadiana media di cortisolo per i pazienti con un quadro diagnostico contraddistinto da severità e pazienti senza

tale criterio distintivo. Non vi sono differenze significative tra gli andamenti circadiani medi dei due gruppi.

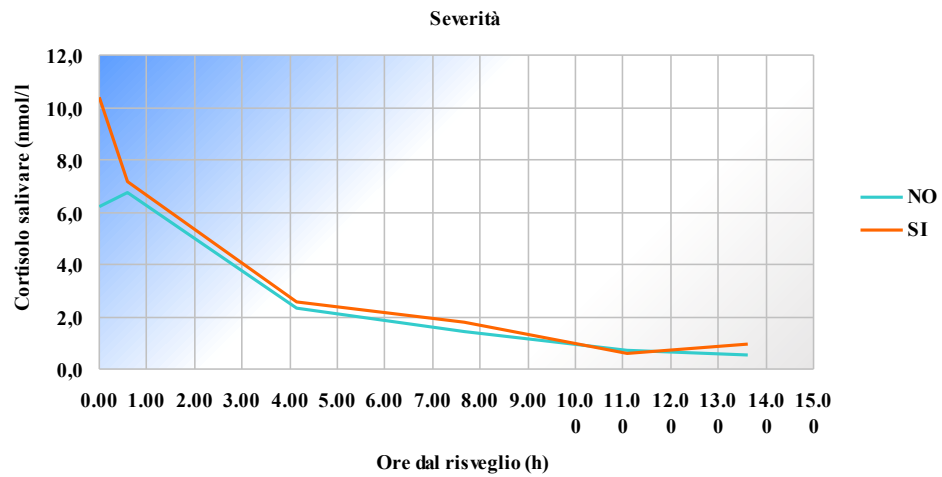


Grafico 30 - Andamento medio del cortisolo circadiano in pazienti con quadri severi e non severi

Nel Grafico 31 studio dell'associazione tra i tre diversi andamenti di CAR (positiva, piana e negativa) e la variabile severità mostra che in condizioni di severità la CAR più frequente è quella di tipo negativo (52%), mentre in condizioni non severe sono la CAR positiva e piana ad essere più frequenti (35%) (Grafico 28).

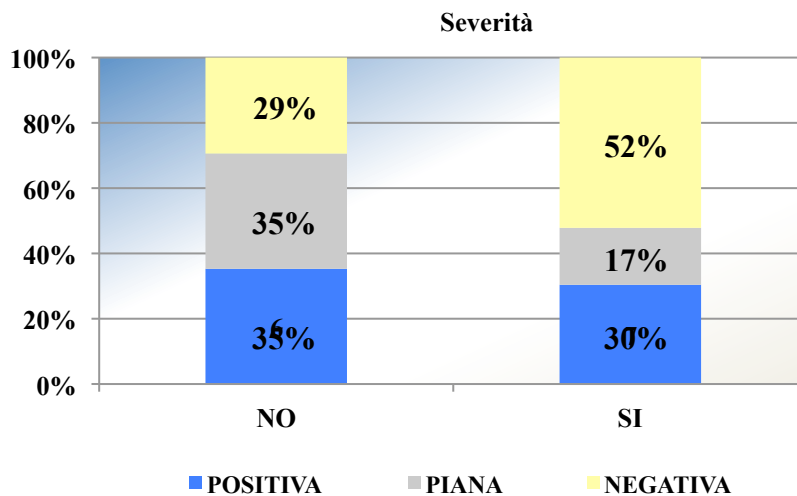
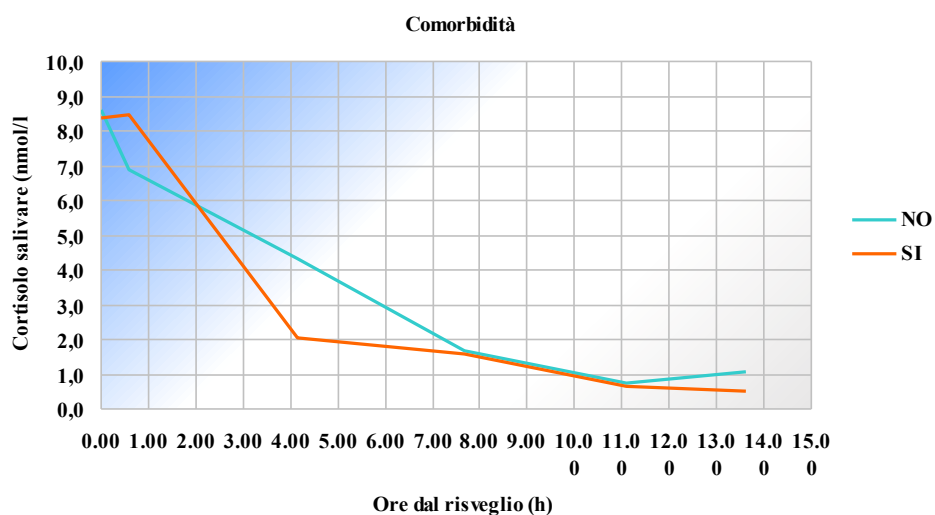


Grafico 31 - Associazione tra la CAR (positiva, negativa, piana) e la severità

Nel Grafico 32 è rappresentata la differente curva circadiana media di cortisolo per i pazienti con un quadro diagnostico contraddistinto da comorbidità, ovvero dalla coesistenza di più diagnosi di maltrattamento, e pazienti con una singole diagnosi. I pazienti con comorbidità presentano andamenti medi simili in alcuni momenti del giorno (C1, C3 e C5), inferiori in alcuni momenti del giorno (C3 e C6) e andamenti medi superiori in altri (C2).



**Grafico 32 - Andamento medio del cortisolo circadiano in pazienti con e senza comorbidità**

Nel Grafico 33 lo studio dell'associazione tra i tre diversi andamenti di CAR (positiva, piana e negativa) e la variabile comorbidità mostra che in presenza di più diagnosi la CAR negativa e quella positiva hanno la medesima frequenza (39%), mentre in pazienti con un'unica diagnosi prevale la CAR negativa (43%) (Grafico 30). A differenza delle altre variabili diagnostiche prese in considerazione, la comorbidità non si associa in modo prevalente ad una CAR negativa.

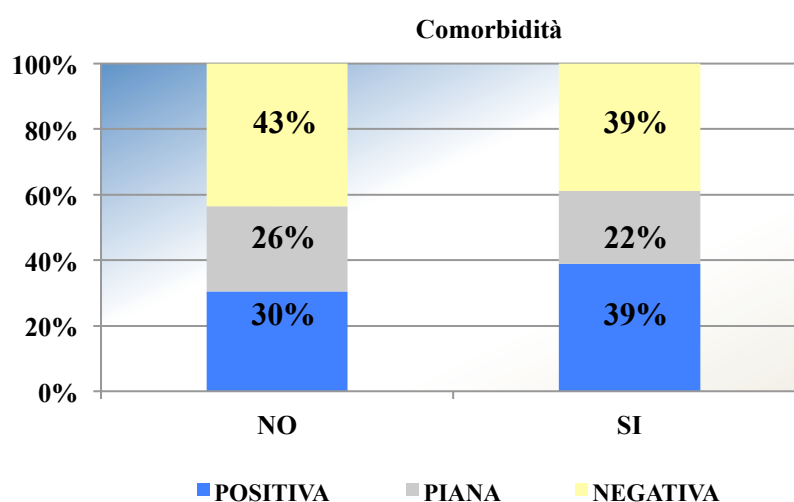


Grafico 33 - Associazione tra la CAR (positiva, negativa, piana) e la comorbidità

### 3. RISULTATI FUNZIONALI

A partire dal 2011, i pazienti afferiti al Centro per la Diagnosi del bambino maltrattato sono stati sottoposti ad un assessment funzionale che prevedeva la somministrazione del test Child Behavior Check-List (CBCL) ad uno o, se possibile, ad entrambi i caregivers.

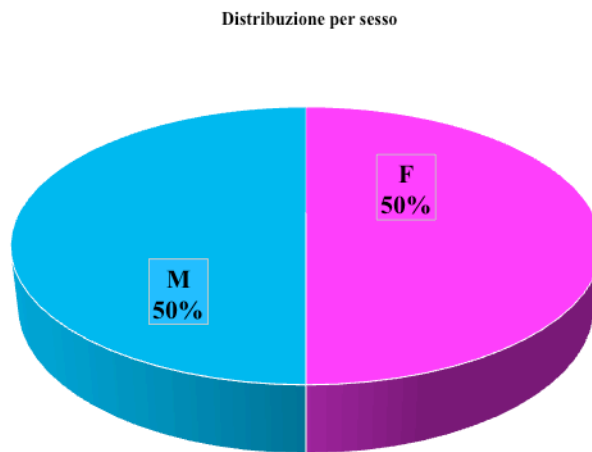
#### 3.1 Descrittiva anagrafica della casistica generale

Dal 2011, 94 bambini hanno effettuato l'assessment funzionale attraverso la somministrazione ad almeno uno dei caregiver della CBCL, nella forma 1,5-5 o nella forma 6-18 a seconda dell'età di riferimento,. Nel 55% dei casi hanno risposto entrambi i genitori, nel 33% solo le madri, nel 5% solo i padri e nel 7% gli educatori, quando il bambino era stato allontanato dal nucleo familiare d'origine e inserito in Comunità educativa o terapeutica (Tabella 4).

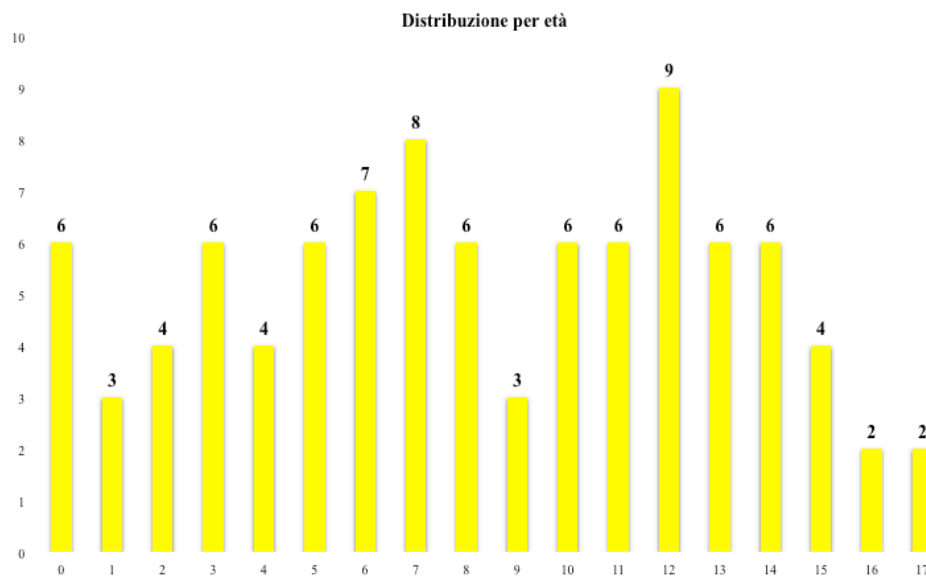
Compilatore	Madre e padre	Madre	Padre	Educatore
Percentuale	55%	33%	5%	7%

Tabella 4 - Tabella descrittiva del compilatore della CBCL

La casistica era composta da 50% di maschi e 50% di femmine (Grafico 35) di età compresa tra 0 e 17 anni (Grafico 35).



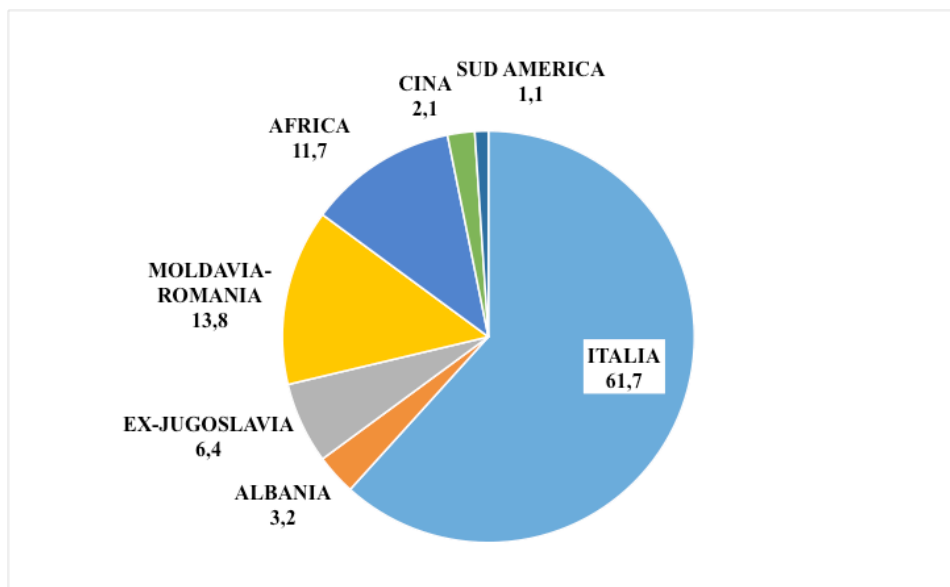
**Grafico 34 – Distribuzione del parametro sesso**



**Grafico 35 – Distribuzione del parametro età**

I bambini presentavano diverse nazionalità: italiana, italo-albanese, italo-finlandese, italo-romena, italo-marocchina, camerunense, marocchina, nigeriana, senegalese, rumena, rom kosovara, moldava, albanese, burkinese, cinese, colombiana. La nazionalità più largamente rappresentata nello studio è quella

italiana (61,7%), e, a seguire, quelle moldava-romena (13,8%) e africana (11,7%). Le nazionalità sono state raggruppate a seconda della zona di provenienza (Grafico 36).



**Grafico 36 – Distribuzione del parametro nazionalità**

Le diagnosi riscontrate sono state quelle di: maltrattamento fisico, neglect, abuso sessuale, abuso psico-emozionale, violenza assistita, Sindrome del bambino scosso (SBS), sindrome di Munchausen per procura (MBPS). La diagnosi con maggior prevalenza è quella di violenza assistita (37%), seguita da quella di maltrattamento fisico (19%), abuso psico-emozionale (13%) e trascuratezza (13%). Considerando il fatto che la violenza assistita è una forma specifica di abuso psico-emozionale tale diagnosi risulta la più frequente in percentuale decisamente maggiore rispetto alle altre, andando ad interessare la metà della nostra popolazione (50%) (Grafico 37).

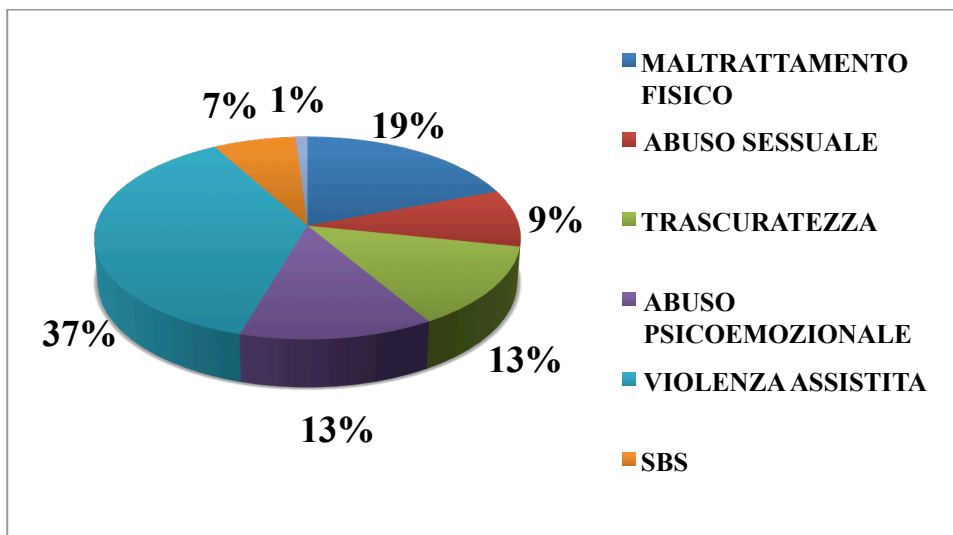


Grafico 37 – Distribuzione del parametro diagnosi

La maggior parte dei maltrattamenti è di tipo intra-familiare (58%) e solo una piccola percentuale extra-familiare (8%). Tra i genitori maltrattanti, il padre maltratta nel 38% dei casi, la madre nel 18% ed entrambi i genitori nel 36% (Grafico 38).

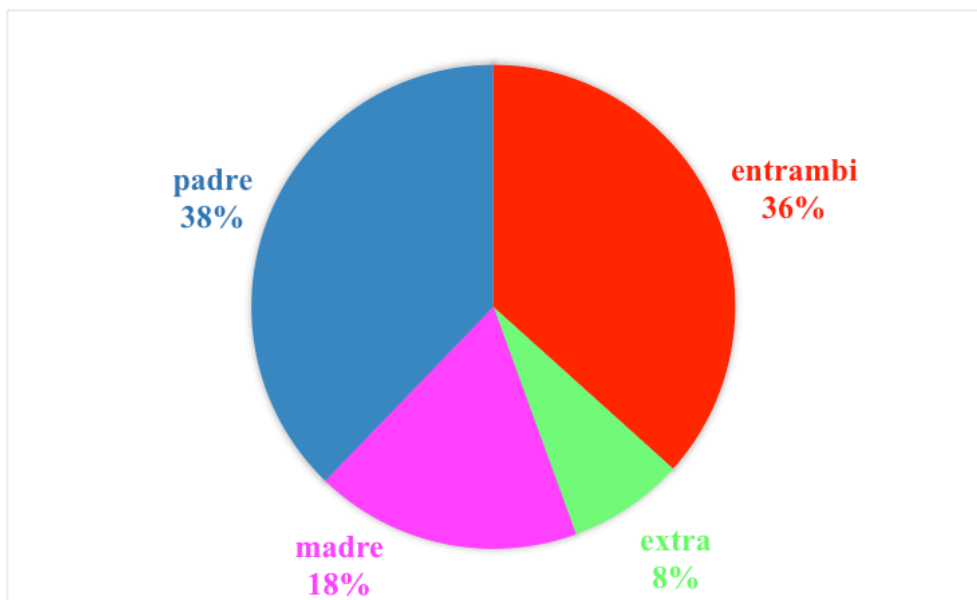
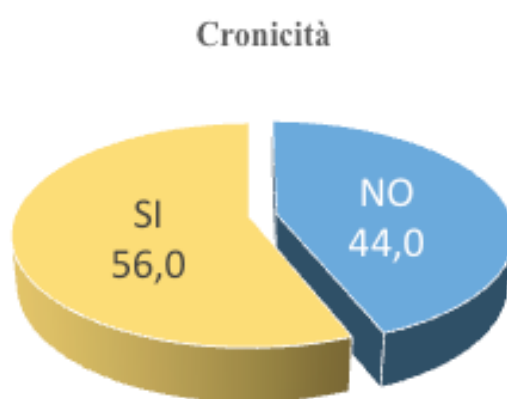


Grafico 38 – Distribuzione del parametro maltrattamento intra- o extra- familiare

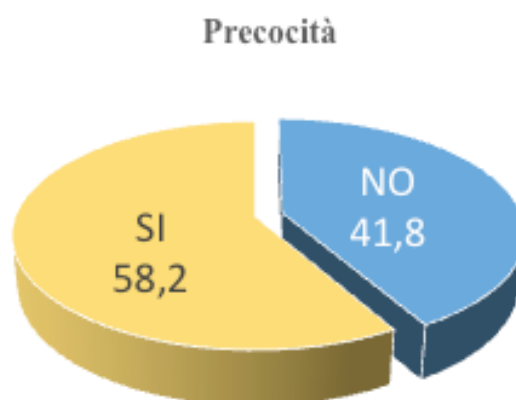
All'intera popolazione in oggetto sono state assegnate delle variabili diagnostiche che abbiamo ritenuto essenziali considerare per meglio comprendere il quadro



clinico generale: cronicità, precocità, severità, comorbidità. La cronicità è stata definita come una condizione di maltrattamento che perdurava da più di 1 anno e, presente nel 56% dei nostri casi (Grafico 39); la precocità come una forma di maltrattamento manifestatasi prima dei 3 anni di età, presente nel 58% dei nostri casi (Grafico 40); la severità come un quadro di peculiare gravità, presente nel 42% dei nostri casi (Grafico 41); la comorbidità nei casi in cui il bambino aveva più di una diagnosi di maltrattamento, presente nel 46% dei nostri casi (Grafico 42).



**Grafico 39 – Distribuzione del parametro cronicità**



**Grafico 40 – Distribuzione del parametro precocità**

### Severità

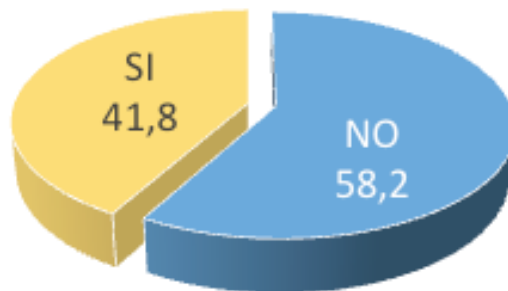


Grafico 41 – Distribuzione del parametro severità

### Comorbidità'

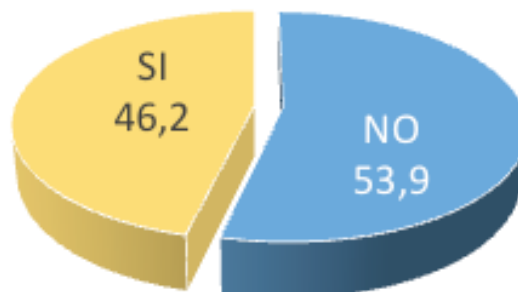
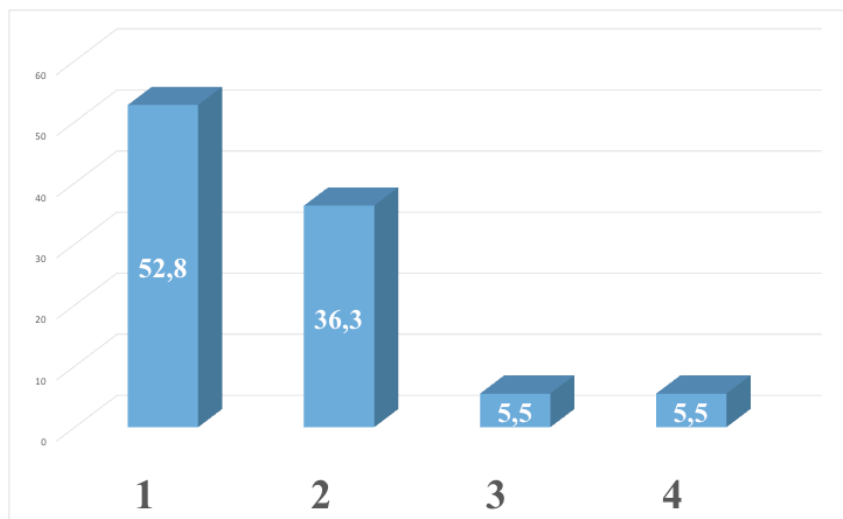


Grafico 42 – Distribuzione del parametro comorbidità

È inoltre stata osservata la distribuzione per diagnosi (Grafico 43). Ognuno dei soggetti del campione era stato vittima di almeno una forma di maltrattamento ai minori, ma è noto come tra le varie forme di maltrattamento esista una forte comorbidità in virtù della simile patogenesi,<sup>54</sup> nel 47% della nostra popolazione, infatti, la diagnosi è multipla, in quanto diverse forme di maltrattamento (da 1 a 4) sono contemporaneamente presenti.



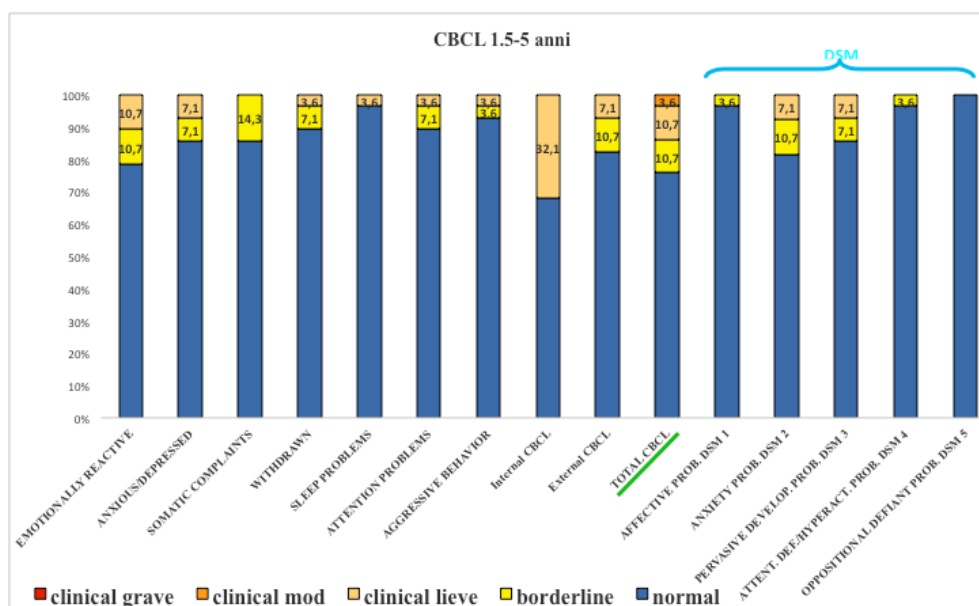
**Grafico 43 – Distribuzione per numero di diagnosi a paziente**

### **3.2 Descrittiva dei risultati relativi al funzionamento del minore (CBCL)**

Tramite la somministrazione della CBCL era nostro obiettivo valutare il funzionamento globale dei pazienti della nostra casistica. Dei 94 bambini, 28 avevano età compresa tra 1,5 e 5 anni, mentre 66 avevano età compresa tra 6 e 18 anni. Per le elaborazioni che seguono sono stati utilizzati i questionari somministrati al caregiver principale, che nel 88% dei casi era la madre, nel 5% del padre e nel 7% erano gli educatori, in condizioni di allontanamento del bambino dal nucleo familiare con inserimento in Comunità residenziale.

Il Grafico 44 riporta il profilo riassuntivo dei risultati ottenuti al test sui 28 bambini di età 1,5-5. Il 32% circa della popolazione presenta problemi internalizzanti, il 18% circa esternalizzanti (7% clinici e 11% borderline), il 15% circa ha un funzionamento globale clinico, l'11% circa borderline e il 79% circa normale. La scala più compromessa è quella relativa ai problemi internalizzanti, cui concorrono le scale sindromiche di reattività emozionale (11% clinici, 11% borderline), ansia e depressione (7% clinici, 7% borderline), somatizzazione (14% borderline). Per quanto riguarda i problemi esternalizzanti, meno incisivi nella popolazione 1,5-5 anni, i problemi di attenzione sono presenti nel 11% dei casi (4% clinici, 7% borderline) e il comportamento aggressivo nel 8% circa (4% clinici, 4% borderline). In riferimento alle scale DSM-oriented, emergono i

problemi d'ansia (7% clinici, 11% borderline) e i problemi pervasivi dello sviluppo (7% clinici, 7% borderline).

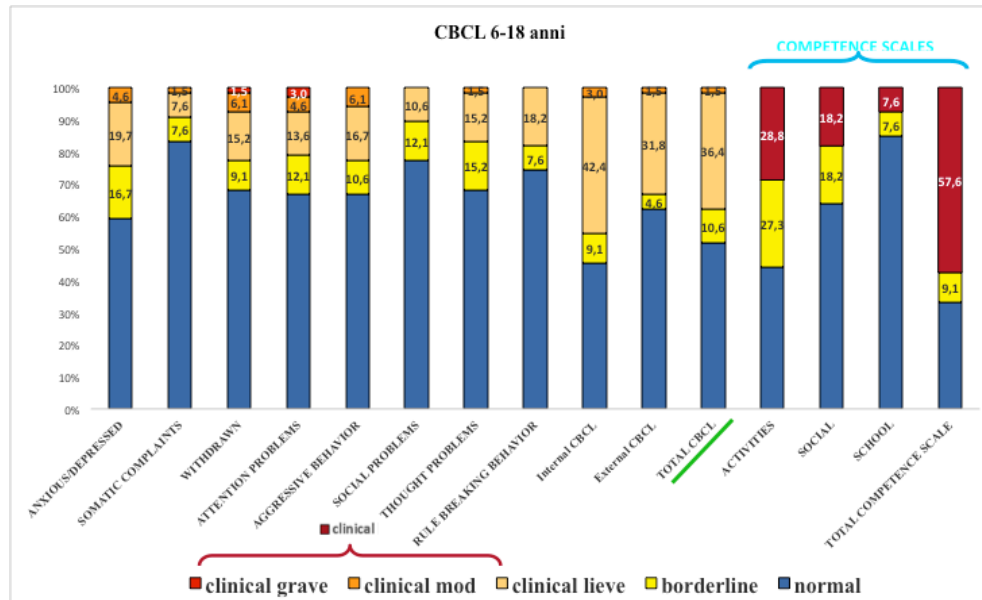


**Grafico 44 - Profilo funzionale dei bambini 1,5-5 anni, misurato attraverso la somministrazione della CBCL al caregiver primario**

Il funzionamento del gruppo 6-18 è decisamente peggiore rispetto al gruppo dei più piccoli, in tutte le scale, sia sindromiche che delle competenze sociali. I problemi internalizzanti superano quelli esternalizzanti, anche se entrambi sono presenti in modo clinico in buona parte della casistica.

Il Grafico 45 riporta il profilo riassuntivo dei risultati ottenuti al test sui 66 minori di età 6-18 anni. Il 50% circa della popolazione ha un funzionamento globale problematico (40% clinici, 11% borderline); i problemi internalizzanti, così come nel gruppo 1,5-5 prevalgono su quelli esternalizzanti, anche se emergono importanti percentuali cliniche in entrambe le scale. Infatti, il 54% circa della popolazione presenta problemi internalizzanti (45% clinici, 9% borderline) e il 40% circa esternalizzanti (36% clinici e 4% borderline). Tra i problemi internalizzanti si evidenziano problemi ansioso-depressivi (25% clinici, 17% borderline), ritiro (22% clinici, 9% borderline) e somatizzazione (9% clinici, 8% borderline). Per quanto riguarda i problemi esternalizzanti, i problemi di attenzione sono presenti nel 34% dei casi (22% clinici, 12% borderline), il

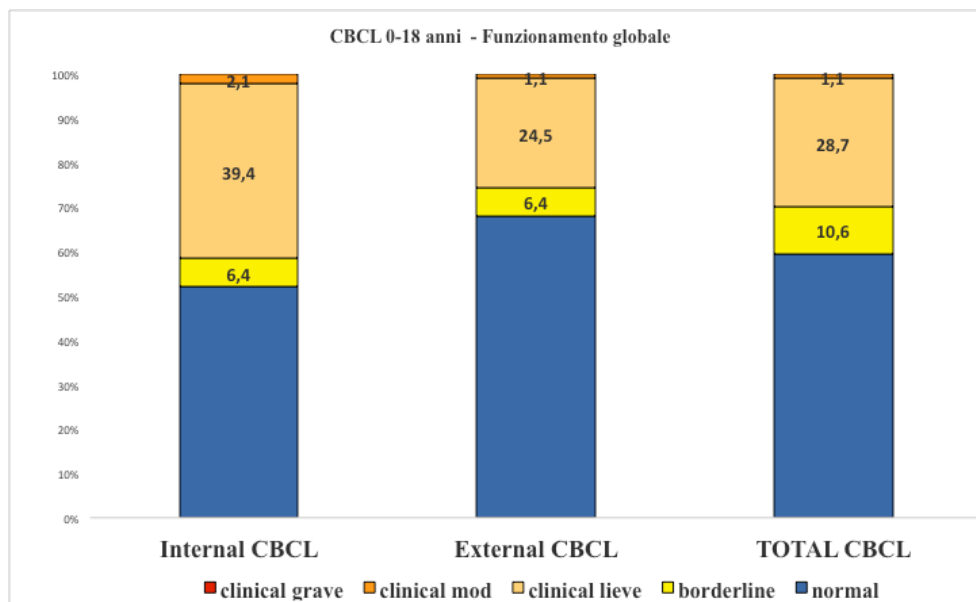
comportamento aggressivo nel 33% circa (23% clinici, 10% borderline), i problemi sociali nel 23% dei casi (11% clinici, 12% borderline), i comportamenti devianti nel 26% dei casi (18% clinici, 8% borderline). Hanno una buona prevalenza anche altre problematiche quali i disturbi del pensiero, presenti nel 36% dei casi (19% clinici, 15% borderline).



**Grafico 45 - Profilo funzionale dei bambini e adolescenti 6-18 anni, misurato attraverso la somministrazione della CBCL al caregiver primario**

In riferimento alle competenze sociali, si evidenzia l'alta percentuale di casi con punteggio clinicamente significativo nella scala totale (58% clinico, 9% borderline), dovuto a: scarse attività extrascolastiche (29% clinici, 27% borderline), insufficienti interazioni coi pari (18% clinici, 18% borderline), problematiche scolastiche (8% clinici, 8% borderline).

È riassunta in seguito la distribuzione di problemi funzionali internalizzanti, esternalizzanti e totali nella casistica globale di 94 minori 0-18, dalla quale si evidenzia una lieve prevalenza di problemi internalizzanti, che nella maggior parte dei casi sembrano coesistere con quelli esternalizzanti. (Grafico 46)



**Grafico 46 - Profilo funzionale globale dei bambini e adolescenti 0-18 anni, misurato attraverso la somministrazione della CBCL al caregiver primario**

Per un sottogruppo di 52 pazienti di età 0-18, la cui CBCL era stata compilata da entrambi i genitori, sono stati analizzati i risultati delle madri (Grafico 47) e dei padri (Grafico 48) separatamente, in modo da studiare eventuali differenze nell'immagine che il genitore ha del figlio da un punto di vista funzionale.

Dal confronto con i punteggi ottenuti dalle madri e dai padri alla CBCL, si evidenziano punteggi in generale simili, dimostrando che il test permette di rilevare un'immagine oggettiva del bambino o, quantomeno, condivisa tra madre e padre. In alcune scale specifiche però si evidenziano alcune importanti differenze; le madri tendono a vedere i bambini come un po' più problematici nei problemi internalizzanti (48% madri versus 38% padri), soprattutto in termini di problemi ansiosi-depressivi (35% vs 22%) e somatizzazioni (24% vs 13%). I padri sembrano invece identificare maggiormente problemi di tipo esternalizzante, come i deficit di attenzione iperattività (6% clinico vs 6% borderline), i comportamenti oppositivo-provocatori (6% vs 0%), i problemi sociali (23% vs 18%) e le scarse competenze sociali (83% vs 67%).

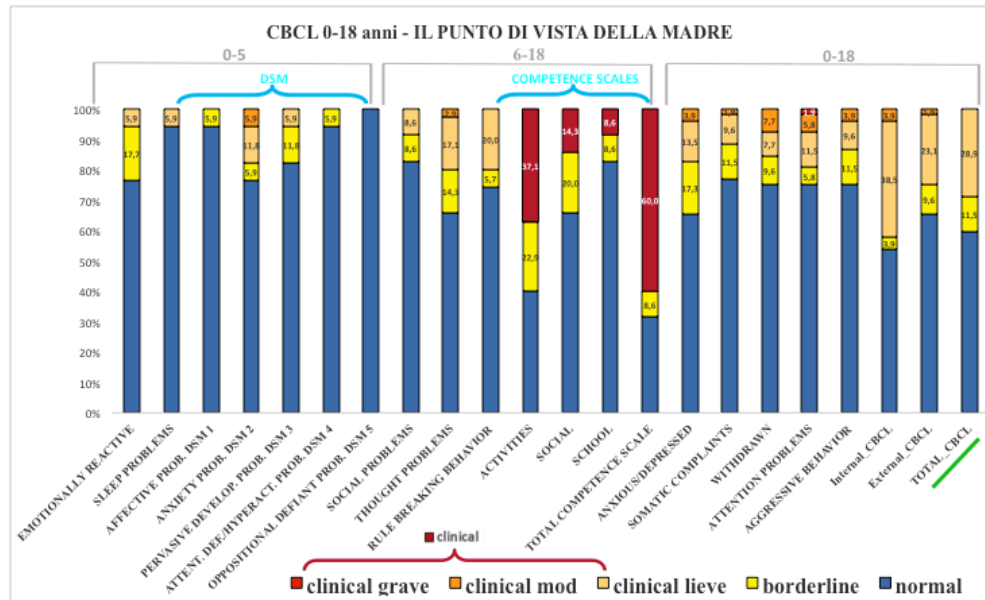


Grafico 47 - Profilo funzionale dei bambini e adolescenti 0-18 anni, misurato attraverso la somministrazione della CBCL alla madre

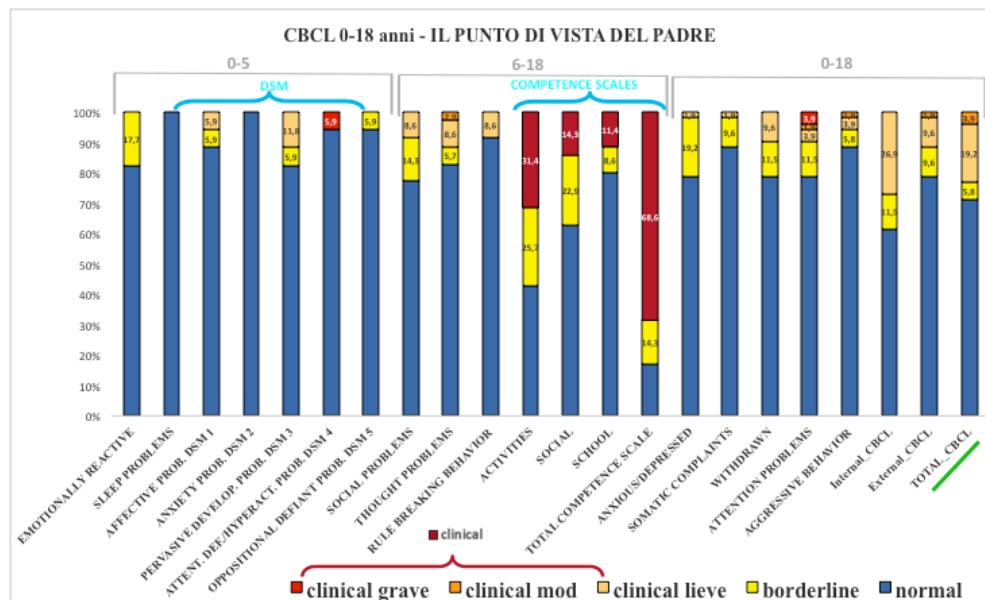


Grafico 48 - Profilo funzionale dei bambini e adolescenti 0-18 anni, misurato attraverso la somministrazione della CBCL al padre

### 3.3 Descrittiva dei risultati relativi allo stress genitoriale (PSI)

Dei 94 pazienti con CBCL, 78 hanno anche una misura dello stress genitoriale, attraverso la compilazione del PSI da parte di uno o di entrambi i genitori, per un totale di 104 profili. I profili ottenuti tramite il Parenting Stress Index (PSI) sono

riassunti nel Grafico 49, in cui si notano punteggi significativi in tutte le scale, specialmente in quella relativa ai comportamenti del bambino e all'interazione genitore-bambino. Lo stress genitoriale sembra dipendere principalmente dai comportamenti del bambino, vissuto come problematico e fonte di stress (Scala Child 32,5%). Nella lettura di tali risultati bisogna considerare l'elevato grado di difesa nella compilazione del test, rilevata nel 20,6% dei compilatori; tale percentuale motiva, nella maggior parte dei casi, i profili particolarmente bassi di stress nelle diverse scale (24,6% Parent, 15,9% Interaction, 21,4 % Child, 19,8% Total).

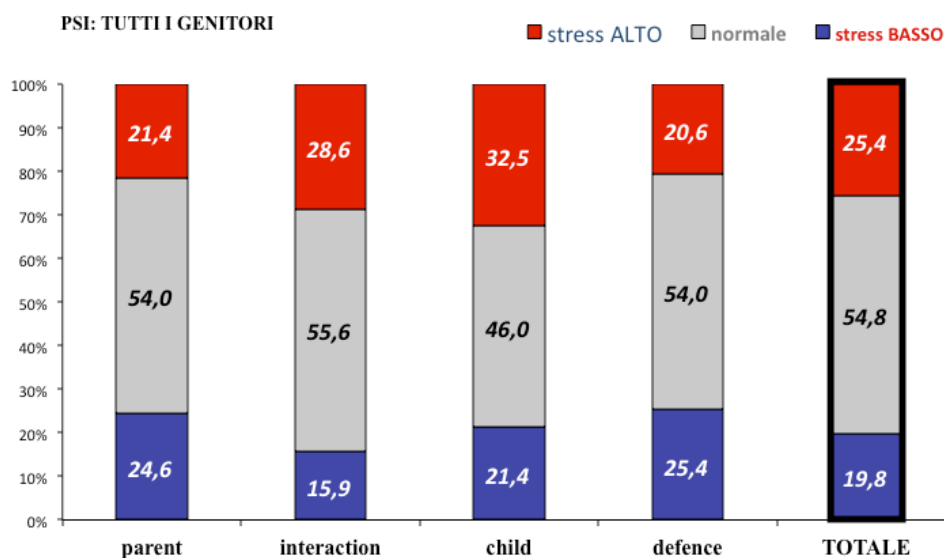


Grafico 49 – Profilo dello stress genitoriale, misurato attraverso la somministrazione del PSI

Per 48 casi è stato possibile confrontare lo stress genitoriale delle madri (Grafico 50) e dei padri (Grafico 51) così come espresso dal PSI. In generale, lo stress totale è simile nelle madri (22,9%) e nei padri (27,1%), ma si evidenziano alcune differenze significative: i padri hanno punteggi più elevati di stress nella scala relativa al ruolo genitoriale (Parent: 25% vs 14,6%) e all'interazione genitore-figlio (Interaction: 35,4% vs 20,8%), mentre le madri hanno punteggi più elevati di stress nella scala relativa al comportamento del bambino (Child: 37,5% vs 27,1%).



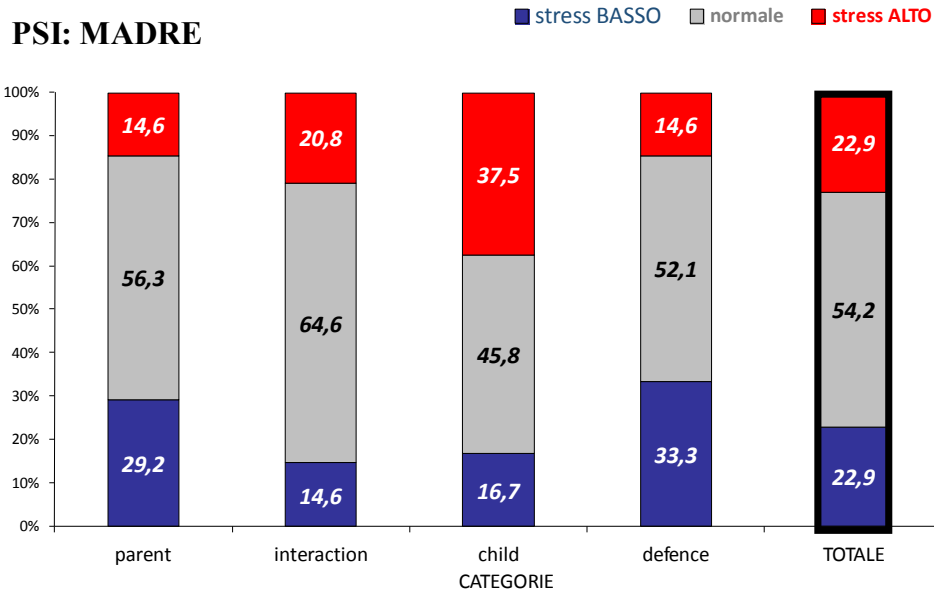


Grafico 50 – Profilo dello stress genitoriale materno, misurato attraverso la somministrazione del PSI

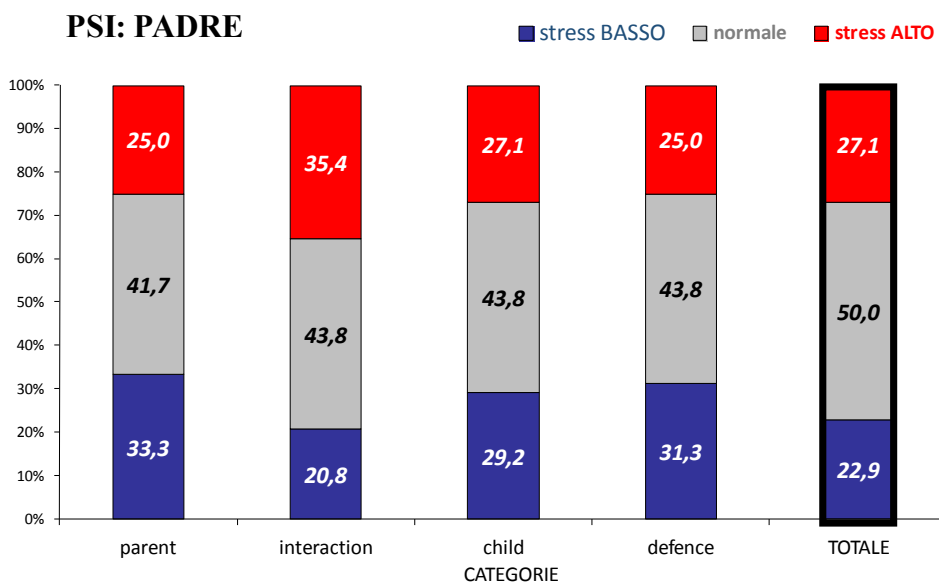
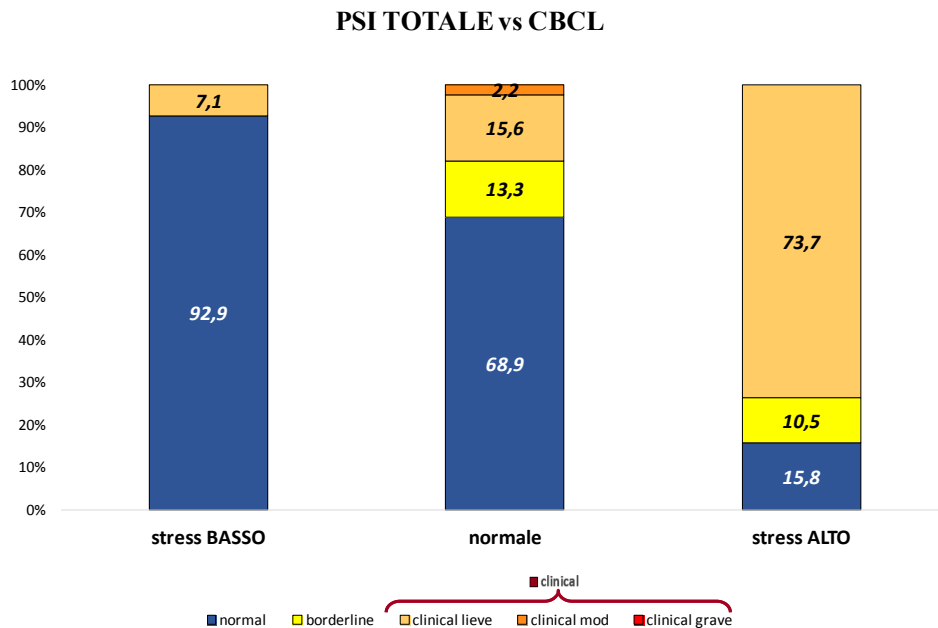


Grafico 51 – Profilo dello stress genitoriale paterno, misurato attraverso la somministrazione del PSI

### 3.4 Analisi dell'associazione tra il funzionamento del bambino e lo stress genitoriale

Per i 78 casi che hanno sia CBCL che PSI sono state effettuate delle analisi bivariate. Dall'incrocio tra i punteggi delle scale totali della CBCL e della PSI si può osservare come a minori livelli di stress totale riportati al PSI, corrispondano

minori livelli di problemi funzionali rilevati dai genitori alla CBCL; viceversa a punteggi elevati al PSI corrispondono punteggi clinici alla CBCL (Grafico 52).



**Grafico 52 – Associazione tra la scala sindromica totale della CBCL e la scala di stress totale del PSI**

Sono state analizzate anche le associazioni tra i punteggi totali alle scale sindromiche della CBCL e le sottoscale del PSI. Dalle analisi effettuate risulta che lo stress genitoriale in tutte le sottoscale del PSI, relative al ruolo genitoriale (Grafico 53), all'interazione genitore-figlio (Grafico 54), al comportamento del bambino (Grafico 55) e alla tendenza del genitore a difendersi nella risposta al questionario, minimizzando i problemi di stress (Grafico 56), risultano associati al funzionamento (normale, borderline o clinico) del bambino così come rilevato dalla CBCL (Total).

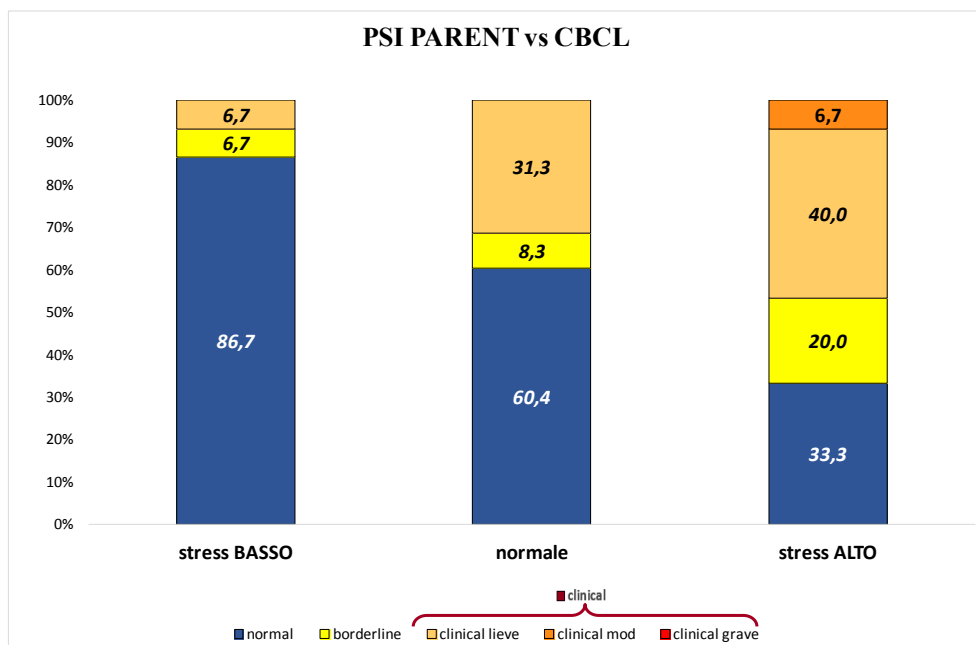


Grafico 53 – Associazione tra la scala sindromica totale della CBCL e la scala Parent del PSI

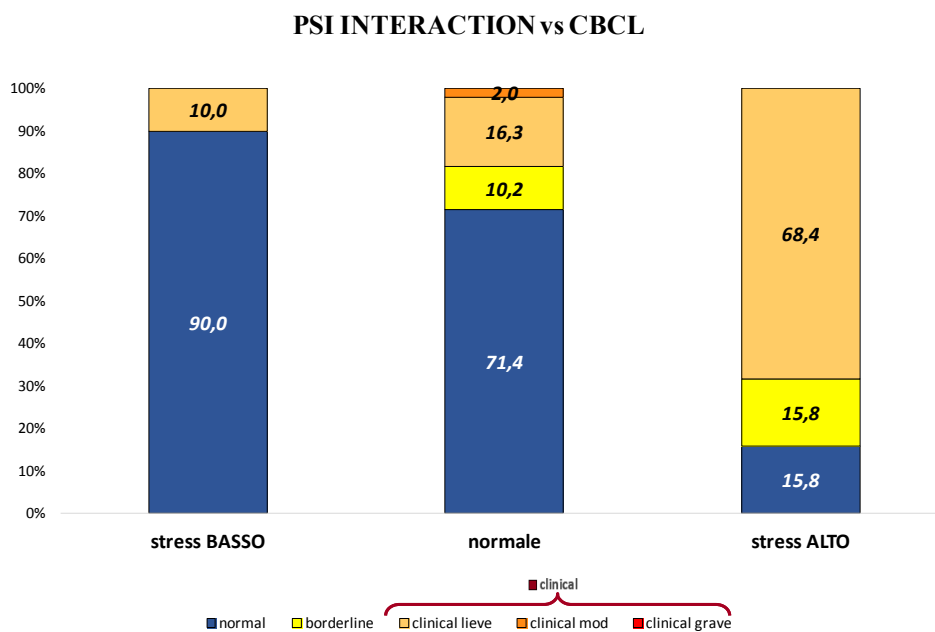


Grafico 54 – Associazione tra la scala sindromica totale della CBCL e la scala Interaction del PSI

### PSI CHILD vs CBCL

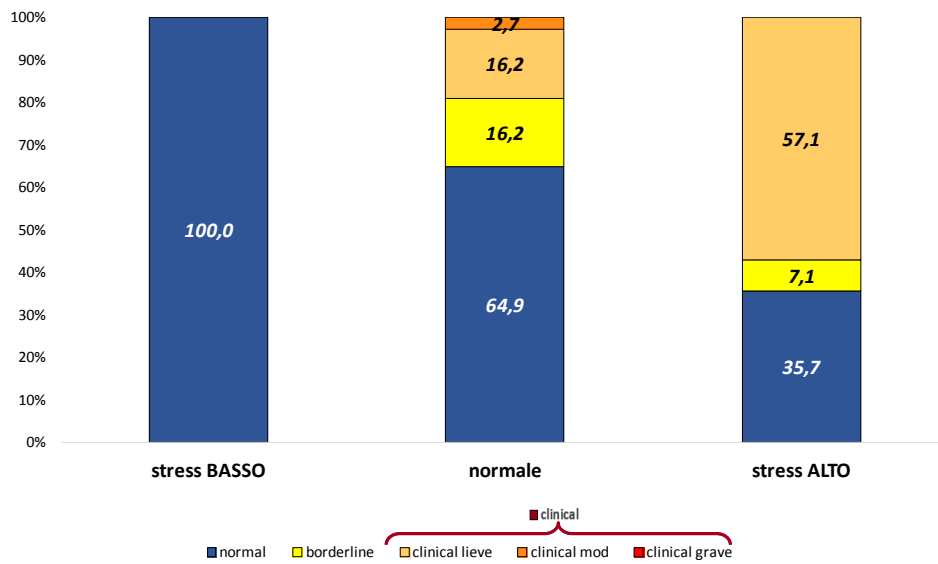


Grafico 55 – Associazione tra la scala sindromica totale della CBCL e la scala Child del PSI

### PSI DEFENCE vs CBCL

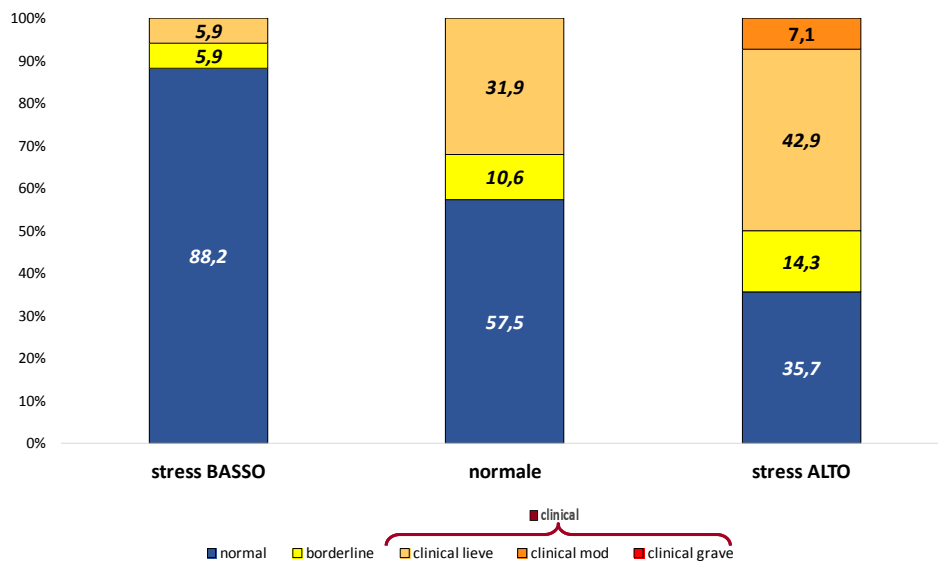


Grafico 56 – Associazione tra la scala sindromica totale della CBCL e la scala Difesa del PSI

### 3.5 Descrittiva dei risultati relativi alla salute psicologica del genitore (SCL-90-R)

Dei 94 casi cui è stato effettuato l'assessment funzionale per mezzo della CBCL, 60 sono stati sottoposti a valutazione della salute psicologica del genitore, attraverso la somministrazione del Symptom Checklist-90-Revisited (SCL-90-R). Nel 75% dei casi hanno risposto entrambi i genitori, nel 22% solo le madri e nel 5% solo i padri. Di questi genitori, il 53% sono madri maltrattanti, il 28% padri maltrattanti, il 12% madri non maltrattanti in contesto di maltrattamento intra-familiare e il restante 7% sono maltrattamenti extra-familiari (Grafico 57).

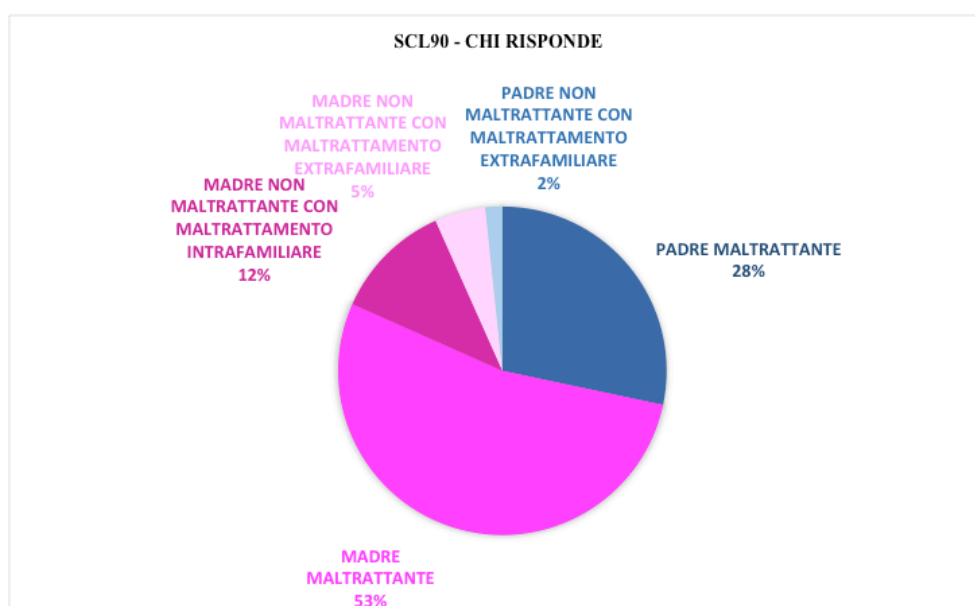
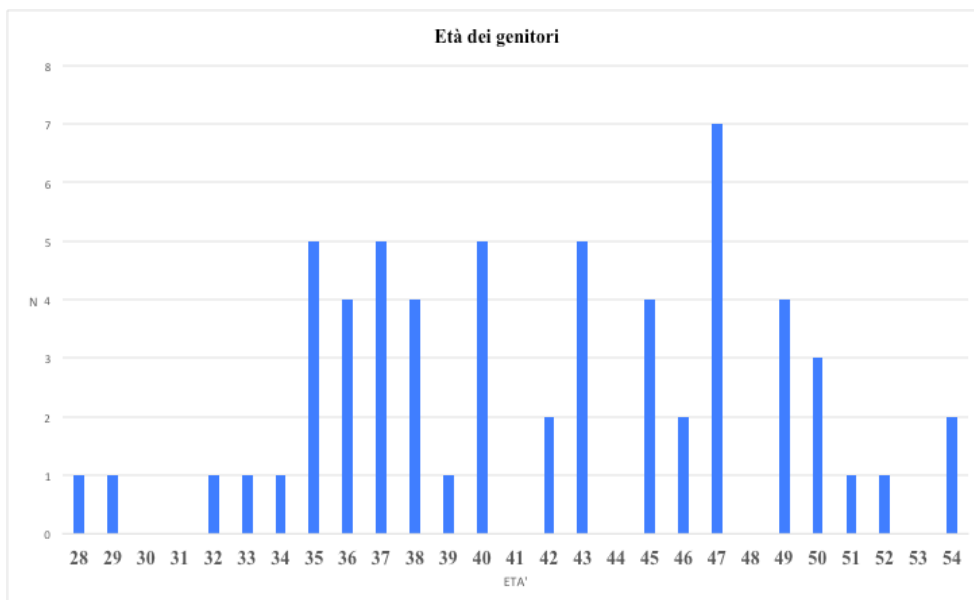
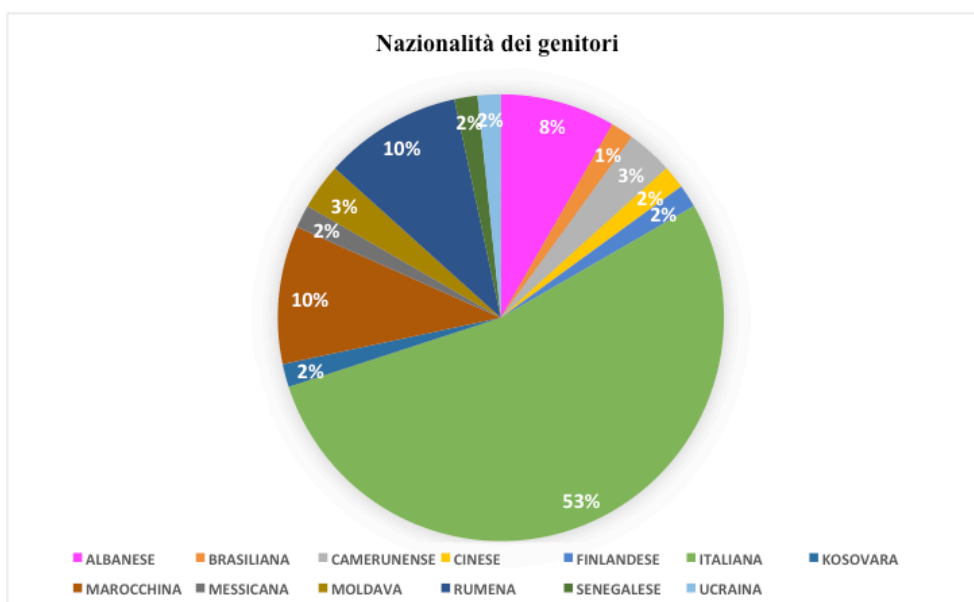


Grafico 57 – Distribuzione dei genitori maltrattanti e non che compilano l'SCL-90-R

L'età dei genitori è compresa tra i 28 e i 54 anni, con una maggior distribuzione tra i 35 e i 47 anni. (Grafico 58). Le nazionalità sono molto eterogenee, con un 47% di nazionalità straniera, che è alta considerato il tasso di stranieri nella popolazione di Padova e del Veneto (da cui proviene l'intera casistica). La nazionalità più rappresentata è quella italiana (53%), a seguire quella marocchina (10%) e rumena (10%) (Grafico 59).



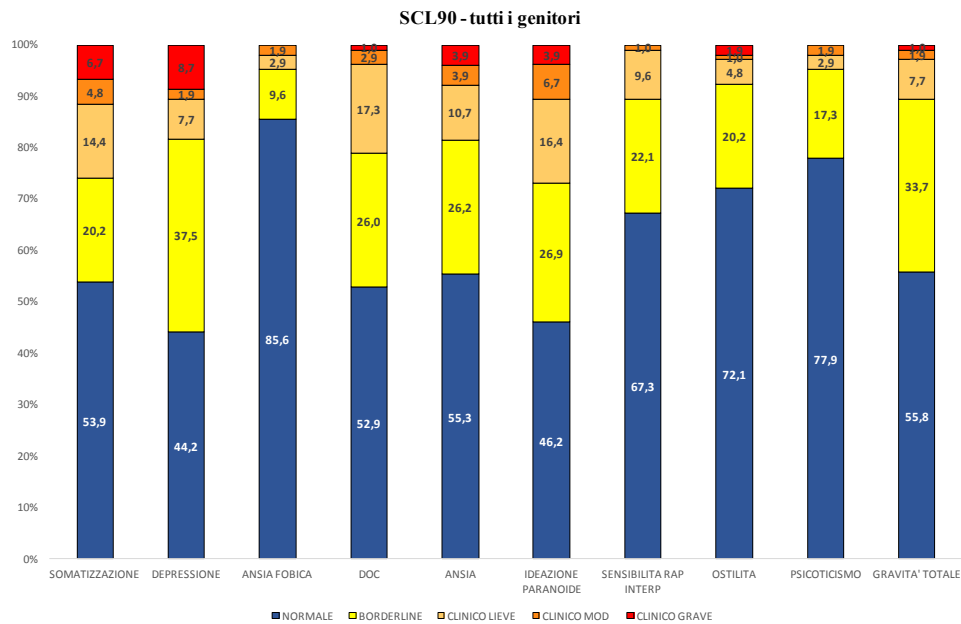
**Grafico 58 – Distribuzione per età dei genitori che compilano l'SCL-90-R**



**Grafico 59 – Distribuzione per nazionalità dei genitori che compilano l'SCL-90-R**

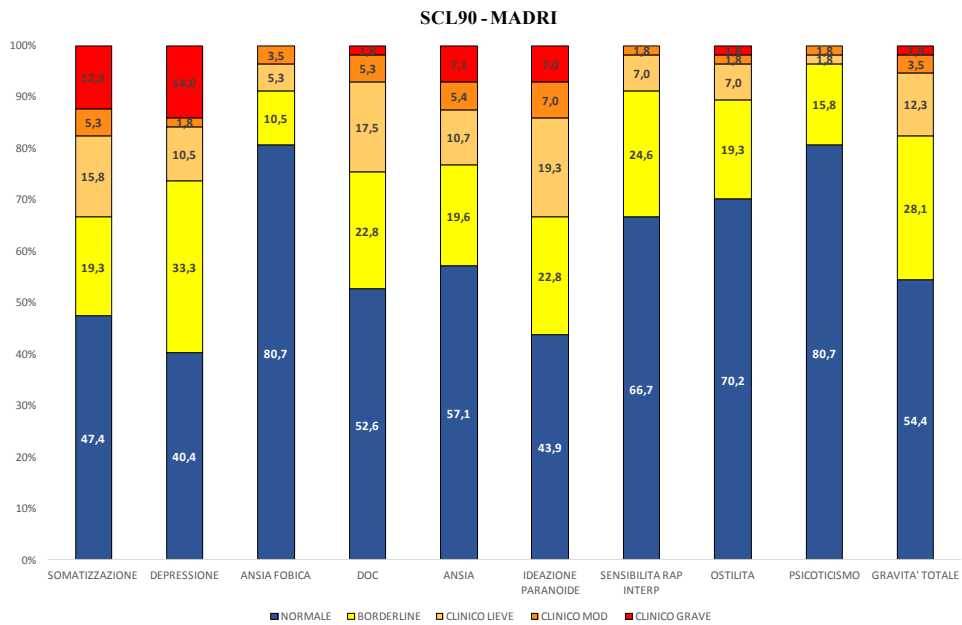
Dall'analisi descrittiva dei risultati del SCL-90-R emerge che una buona percentuale di genitori presenta livelli borderline o clinici di funzionamento nelle diverse scale sindromiche (Grafico 60). I punteggi clinicamente più significativi si riscontrano nelle scale della Gravità totale (44%, di cui 10% clinici, 34% borderline), della Depressione (56%, di cui 19% clinici, 37% borderline), dell'Ideazione paranoide (54%, di cui 27% clinici, 27% borderline), dei Disturbi

Ossessivo-Compulsivi (47%, di cui 21% clinici, 26% borderline), della Somatizzazione (46%, di cui 26% clinici, 20% borderline) e dell'Ansia (45%, di cui 19% clinici, 26% borderline). Sono presenti, seppur in percentuale inferiore, anche disturbi relativi alla Sensibilità nei rapporti interpersonali (33%, di cui 12% clinici, 22% borderline), nell'Ostilità (30%, di cui 8% clinici, 20% borderline), nello Psicoticismo (22%, di cui 5% clinici, 17% borderline) e nell'Ansia Fobica (15%, di cui 5% clinici, 10% borderline).

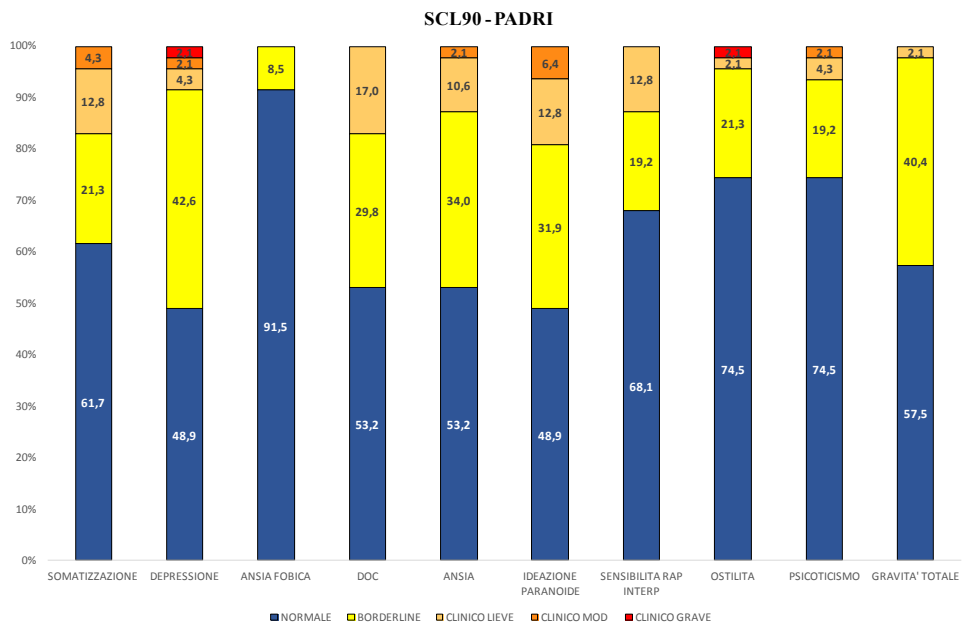


**Grafico 60 – Profilo della salute psicologica del genitore, misurata attraverso la somministrazione del SCL-90-R**

Sono stati inoltre analizzati i punteggi ottenuti dalle madri (Grafico 61) e dai padri (Grafico 62) in modo differenziato; da tale analisi è risultato che le madri hanno punteggi borderline e clinici maggiori in tutte le scale, tranne in quella dello Psicoticismo.



**Grafico 61 – Profilo della salute psicologica della madre, misurata attraverso la somministrazione del SCL-90-R**

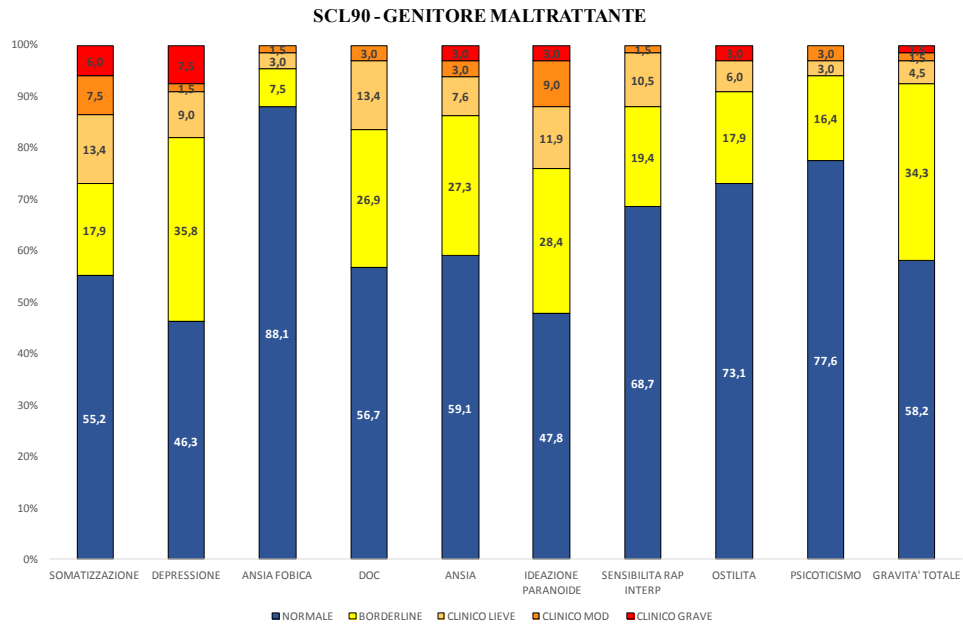


**Grafico 62 – Profilo della salute psicologica del padre, misurata attraverso la somministrazione del SCL-90-R**

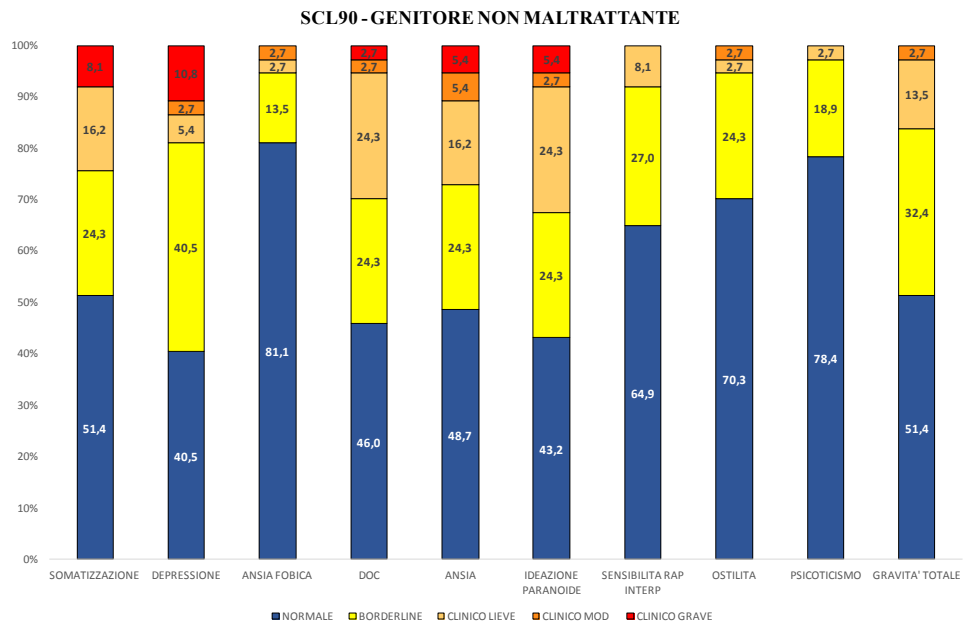
**Si è ritenuto opportuno analizzare i dati dell'SCL-90-R distinguendo tra: genitore maltrattante e genitore non maltrattante; genitore non maltrattante in contesto di maltrattamento intra-familiare e genitore non maltrattante in contesto di maltrattamento extra-familiare.**



Dal confronto effettuato tra genitori maltrattanti (Grafico 63) e non maltrattanti (Grafico 64) emerge che i profili psicologici seppur simili, sono peggiori per i genitori non maltrattanti.

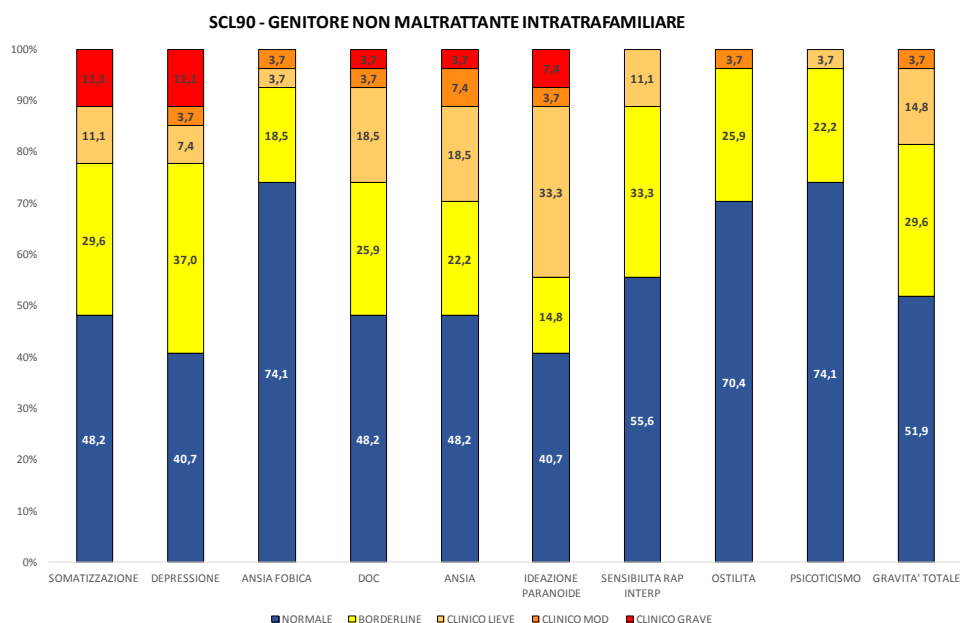


**Grafico 63 – Profilo della salute psicologica del genitore maltrattante, misurata attraverso la somministrazione del SCL-90-R**

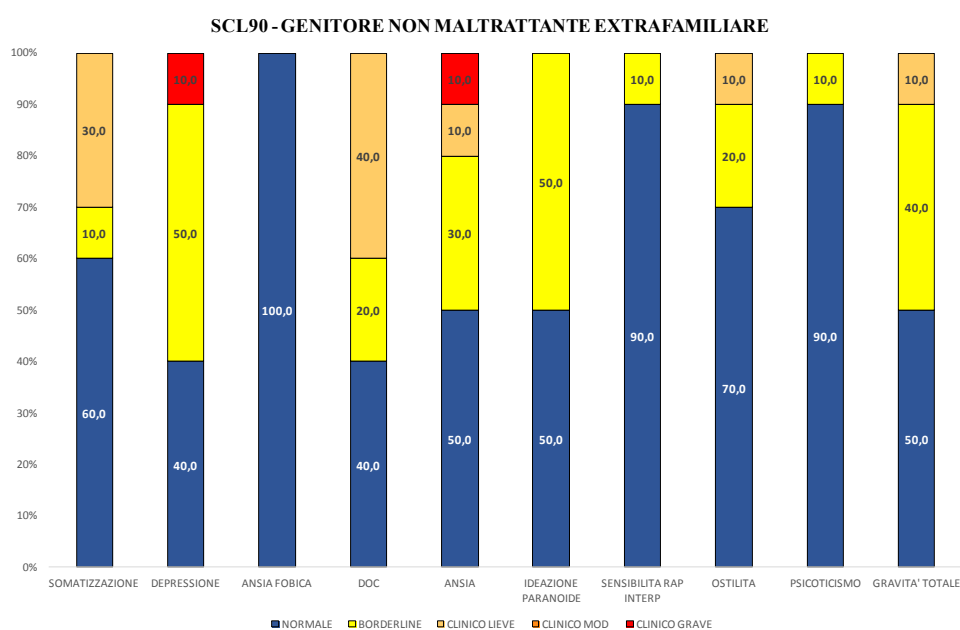


**Grafico 64 – Profilo della salute psicologica del genitore non maltrattante, misurata attraverso la somministrazione del SCL-90-R**

Dal confronto effettuato tra genitori non maltrattanti in contesti intra-familiare (Grafico 65) ed extra-familiare (Grafico 66) invece, emergono punteggi borderline e clinici maggiori nelle diverse scale per genitori appartenenti a famiglie maltrattanti.

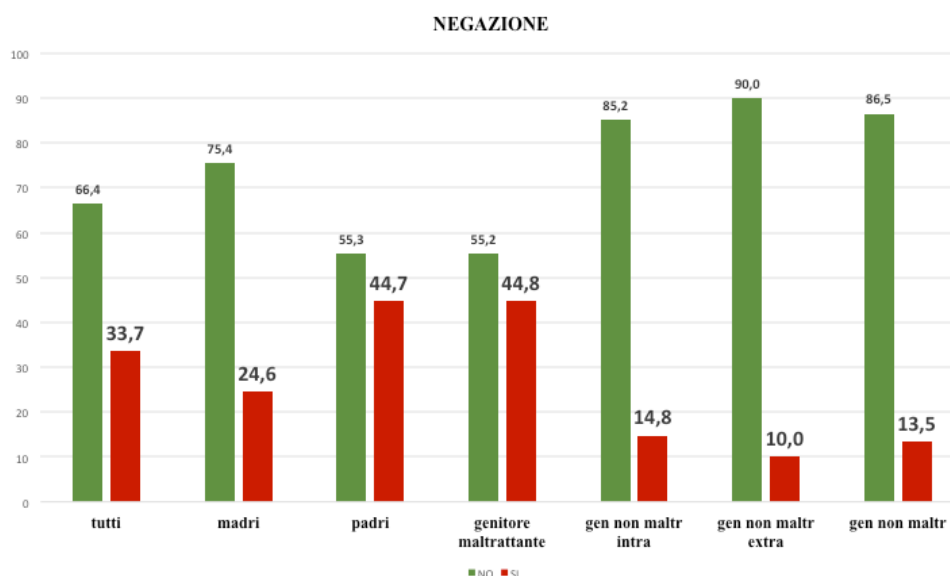


**Grafico 65 – Profilo della salute psicologica del genitore non maltrattante in contesto di maltrattamento intra-familiare, misurata attraverso la somministrazione del SCL-90-R**



**Grafico 66 – Profilo della salute psicologica del genitore non maltrattante in contesto di maltrattamento extra-familiare, misurata attraverso la somministrazione del SCL-90-R**

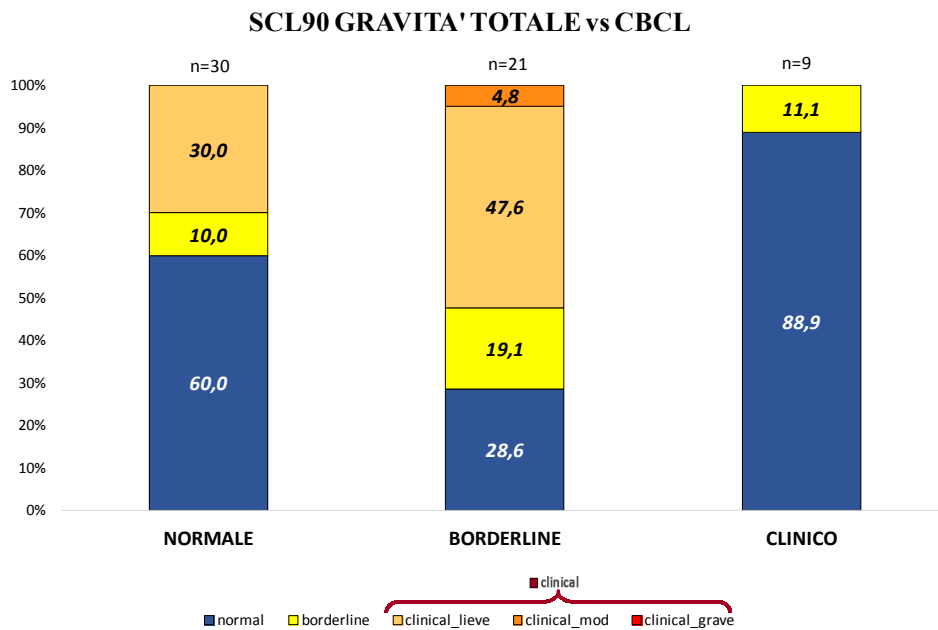
I risultati ottenuti nelle diverse analisi devono però tener conto dell'elevato grado di negazione che presentano i genitori di bambini con diagnosi di maltrattamento nella risposta ai questionari, anche nel SCL-90-R. È stata inserita quindi un'analisi descrittiva per i diversi gruppi di genitori appena descritti in riferimento alla negazione, così come riscontrata attraverso la valutazione psicologica clinica (Grafico 67) Dall'analisi effettuata si evidenzia che i genitori di bambini con diagnosi di maltrattamento (che siano maltrattanti o meno) tendono a negare nel 33,7% dei casi, che il genitore maltrattante tende a negare nel 44,8% dei casi; i padri (maltrattanti e non) negano di più (44,7%) rispetto alle madri (24,6%) e ai genitori non maltrattanti (13,5%).



**Grafico 67 – Negazione del genitore di minore con diagnosi di maltrattamento nella compilazione del SCL-90-R**

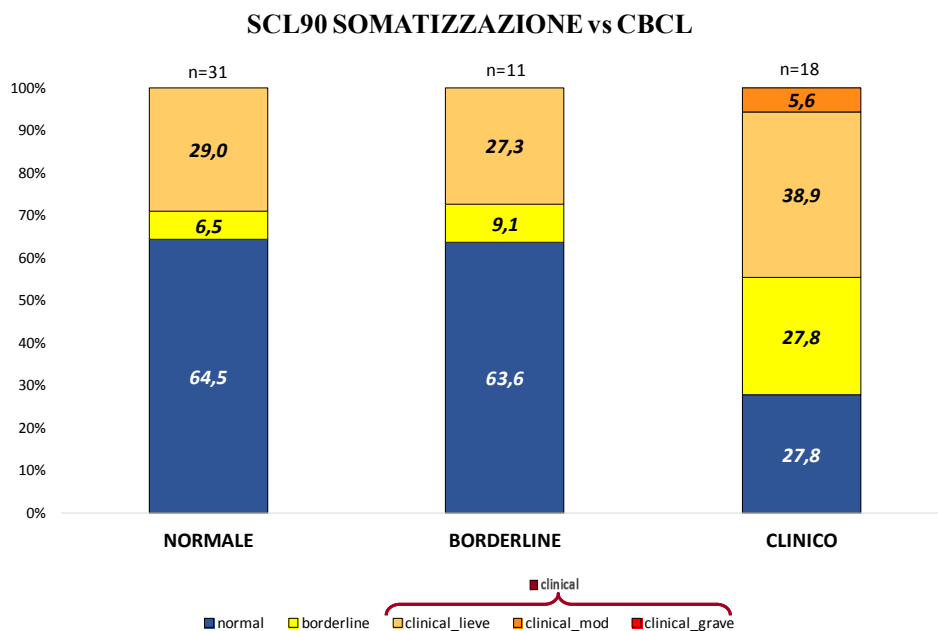
### **3.6 Analisi dell'associazione tra il funzionamento del bambino e la salute psicologica dei genitori**

Al fine di studiare eventuali associazioni tra il funzionamento del bambino e la salute psicologica del genitore, è stata effettuata un'analisi bivariata tra i risultati ottenuti nelle scale sindromiche totali della CBCL e le diverse scale del SCL-90-R (Grafico 68). Dall'analisi generale effettuata si evince che a punteggi borderline nella scala della gravità totale del SCL-90-R si associano punteggi clinici nella scala del funzionamento globale della CBCL.

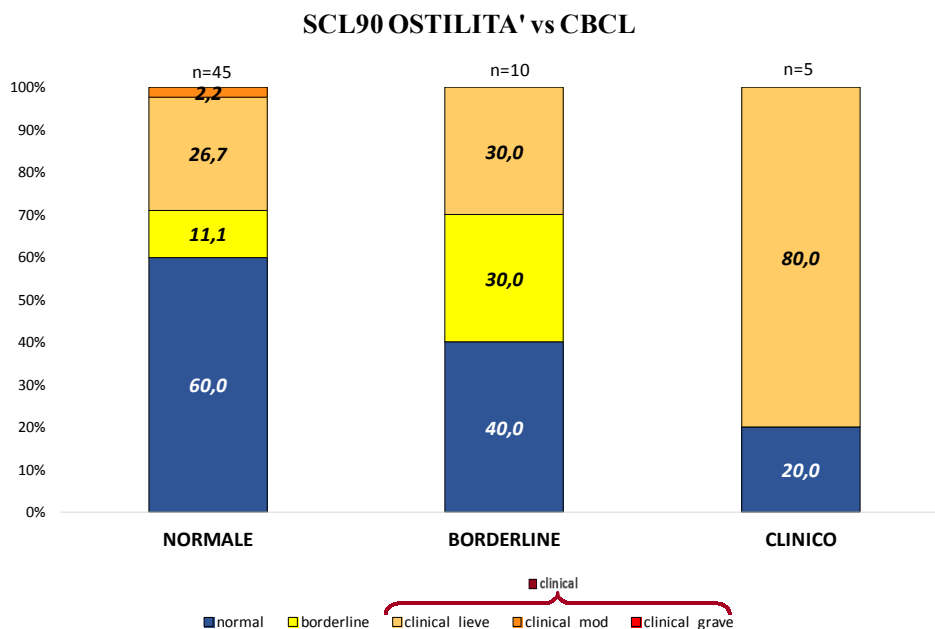


**Grafico 68 – Associazione tra la scala sindromica totale della CBCL e la scala di Gravità totale del SCL-R-90**

Per quanto riguarda le altre scale del SCL-90-R, risultano particolarmente significative le associazioni tra CBCL e le scale della Somatizzazione (Grafico 69) e dell’Ostilità (Grafico 70) da cui emerge che punteggi clinici di somatizzazione e ostilità del genitore sono associati a punteggi clinici del funzionamento del bambino.

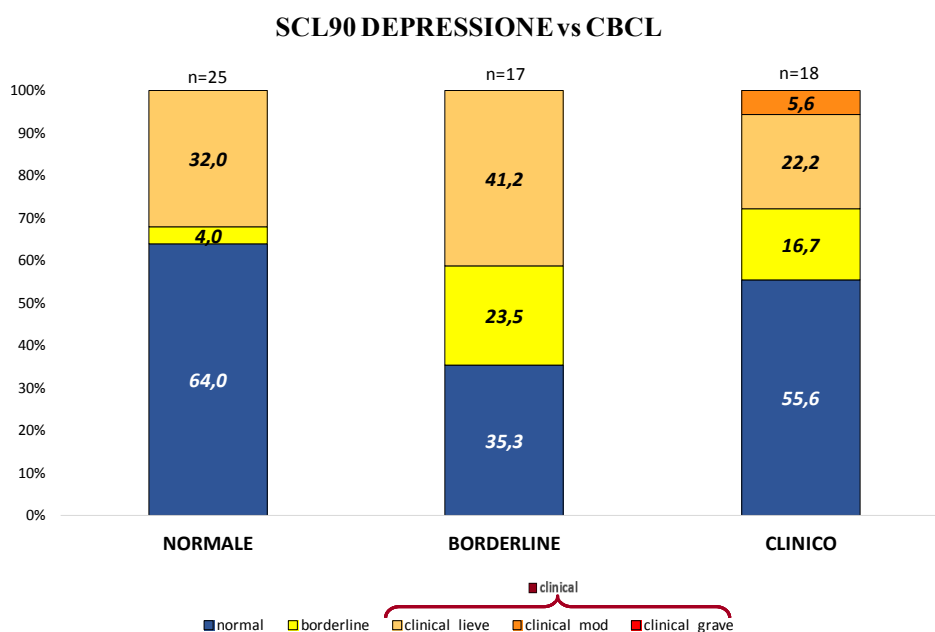


**Grafico 69 – Associazione tra la scala sindromica totale della CBCL e la scala di Somatizzazione del SCL-R-90**



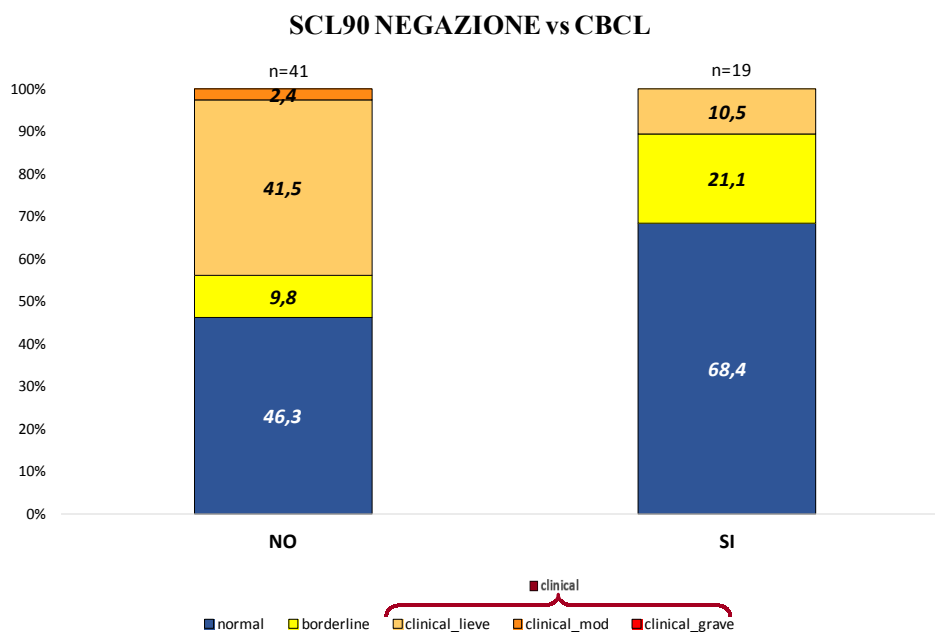
**Grafico 70 – Associazione tra la scala sindromica totale della CBCL e la scala di Ostilità del SCL-R-90**

Risultano interessanti anche le associazioni con la scale della Depressione (Grafico 71), da cui emerge che i punteggi clinicamente più gravi del genitore sono associati ad un funzionamento clinico del bambino e i punteggi borderline del genitore ad un funzionamento borderline del bambino.



**Grafico 71 – Associazione tra la scala sindromica totale della CBCL e la scala di Depressione del SCL-R-90**

Infine, dall'associazione tra i punteggi alla CBCL e quelli alla scala della negazione del genitore, così come determinata da osservazione clinica emerge che i genitori che negano si associano a bambini più funzionali, cosa che fa pensare che forniscano delle immagini di bambini più funzionali, negando non solo nella SCL90R ma anche nella CBCL (Grafico 72).



**Grafico 72 – Associazione tra la scala sindromica totale della CBCL e la negazione al SCL-R-90**

### 3.7 Analisi dell'associazione tra il funzionamento del bambino e la CAR

Al fine di studiare eventuali associazioni non solo tra le diverse misurazioni funzionali, ma anche tra misurazioni biochimiche e funzionali, è stata effettuata un'analisi bivariata tra il funzionamento psichico globale del bambino, così come misurato dalla CBCL, e il funzionamento neuroendocrino dello stesso, così come misurato dalla CAR (Grafico 73). Dall'analisi effettuata emerge che: i punteggi clinici della CBCL si associano a CAR negativa; la maggior parte dei bambini con CAR piana presenta funzionamento clinico lieve; la maggior percentuale di bambini con funzionamento clinico presenta CAR piana; le CAR negative sono associate a funzionamento clinico nel 55% circa dei casi.

### CORTISOLO vs CBCL

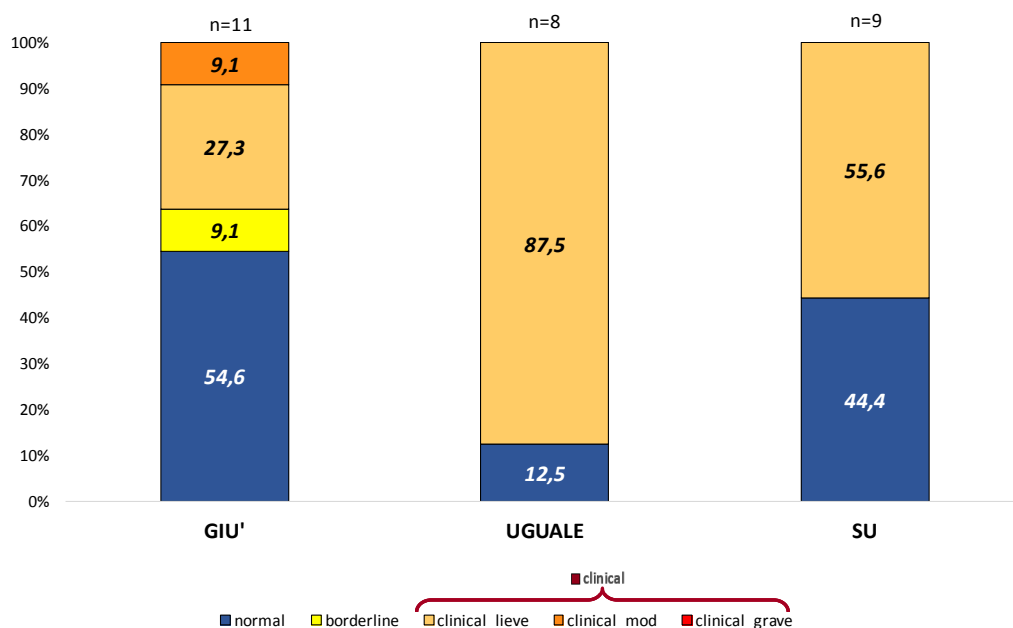


Grafico 73 – Associazione tra la scala sindromica totale della CBCL e la CAR (positiva, piana, negativa)

### 3.8 Analisi multivariata

In riferimento alle misurazioni biochimiche e funzionali, sono state infine effettuate delle analisi multivariate per individuare i fattori predittivi e maggiormente caratterizzanti il profilo funzionale del bambino maltrattato, determinato dalla gravità del quadro evolutivo così come definita clinicamente (Y= gravità).

Sono state condotte quattro analisi di regressione logistica mediante tecnica *stepwise* (SLE=0,20 e SLS=0,15). Nella prima analisi sono stati considerati come possibili variabili predittive del funzionamento clinico del paziente: le caratteristiche individuali del soggetto (sesso, età, etnia), il tipo di diagnosi (maltrattamento fisico, abuso psico-emozionale, patologia delle cure, abuso sessuale), il contesto maltrattante (intra- o extra-familiare, padre maltrattante, madre maltrattante, entrambi i genitori maltrattanti). Le variabili che entrano nel modello sono il sesso maschile (OR=16.845; IC= 1.420 – 199.800) e la diagnosi di maltrattamento fisico (OR=7245; IC= 0.534 – 98.262) come predittive dell'esito “grave” (Tabella 5).

	Coeff.	Odds Ratio (OR)	Intervallo di confidenza OR 95%	Significatività
Intercetta	-0.8563			0.2135
Sesso (maschio)	2.8240	16.845	1.420 – 199.800	0.0252
Maltrattamento fisico	1.9803	7.245	0.534 – 98.262	0.1366

Concordanza (nodi concordanti): 68.3%

Specificità: 77.8% (p=0,5)

Sensibilità: 78.6% (p=0,5)

Correttezza (efficienza): 78.3% (p=0,5)

**Tabella 5 - Risultati ottenuti dalla prima analisi logistica: “bambino con quadro clinico grave” (p=0,0086)**

Nella seconda analisi sono stati considerati come possibili predittori le variabili entrate nel primo modello (maschio, maltrattamento fisico) e quelle relative al profilo di stress genitoriale, come rilevato dal PSI nelle sue cinque scale (Parent, Interaction, Child, Difesa, Totale), e al profilo di salute psicologica del genitore, come rilevato dal SCL-90-R nelle sue 9 scale (Somatizzazione, Depressione, Ansia fobica, Disturbo Ossessivo-Compulsivo, Ansia, Ideazione paranoide, Sensibilità nei rapporti interpersonali, Ostilità e Gravità totale) e nella variabile della Negazione determinata clinicamente. Sia il sesso maschile (OR=18.081; IC= 0.981 – 333.189) che il maltrattamento fisico rimangono nel modello (OR=15.816; IC= 0.725 – 345.107) predittive dell’esito “grave”. Nel modello entra inoltre lo stress totale del genitore, così come misurato nel PSI (OR=18.081; IC= 0.981 – 333.189), sempre come variabile predittiva l’esito (Tabella 6). Non entrano nel modello variabili relative al funzionamento psicologico del genitore così come misurato dal SCL-90-R, che risulta collineare al PSI, evidentemente più forte nel predire l’esito.



	Coeff.	Odds Ratio (OR)	Intervallo di confidenza OR 95%	Significatività
Intercetta	-1.9919			0.0659
Sesso (maschio)	2.8948	18.081	0.981 – 333.189	0.0515
Maltrattamento fisico	2.7610	15.816	0.725 – 345.107	0.0792
PSI: totale	2.8948	18.081	0.981 – 333.189	0.0515

Concordanza (nodi concordanti): 81.7%  
 Specificità: 66.7% (p=0,5)  
 Sensibilità: 92.9% (p=0,5)  
 Correttezza (efficienza): 82.6% (p=0,5)

**Tabella 6 - Risultati ottenuti dalla seconda analisi logistica: “bambino con quadro clinico grave” (p=0.0043)**

Nella terza analisi sono state considerate le variabili entrate nel secondo modello (maschio, maltrattamento fisico, PSI totale) e quelle risultanti dal profilo funzionale del bambino, come rilevato dalla CBCL nelle sue 3 scale globali (Internalizzante, Esternalizzante, Totale). In quest’analisi rimangono le variabili precedentemente entrate nella seconda logistica e non ne entrano di nuove (Tabella 7). Anche in questo caso la collinearità tra CBCL e PSI, determinata dal fatto che è lo stesso genitore a compilare entrambi i test, può spiegare tale risultato.

	Coeff.	Odds Ratio (OR)	Intervallo di confidenza OR 95%	Significatività
Intercetta	-1.9919			0.0659
Sesso (maschio)	2.8948	18.081	0.981 – 333.189	0.0515
Maltrattamento fisico	2.7610	15.816	0.725 – 345.107	0.0792
PSI: totale	2.8948	18.081	0.981 – 333.189	0.0515

Concordanza (nodi concordanti): 81.7%  
 Specificità: 66.7% (p=0,5)  
 Sensibilità: 92.9% (p=0,5)  
 Correttezza (efficienza): 82.6% (p=0,5)

**Tabella 7 - Risultati ottenuti dalla terza analisi logistica: “bambino con quadro clinico grave” (p=0.0043)**

Nell'ultima analisi, sono state considerate le variabili entrate nel terzo modello (maschio, maltrattamento fisico, PSI totale) ed è stato introdotto l'indicatore di profilo biochimico del paziente, misurato attraverso la CAR (positiva, piana o negativa). Sia il sesso maschile (OR=12.108; IC= 0.620 – 236.383) che il PSI totale rimangono nel modello (OR=12.108; IC= 0.725 – 236.383) come variabili predittive dell'esito "grave"; esce invece il maltrattamento fisico. Nel modello entra inoltre la CAR con tendenza positiva (OR=0.066; IC= 0.004 – 1.116), come variabile proteggente dall'esito "grave" (Tabella 8).

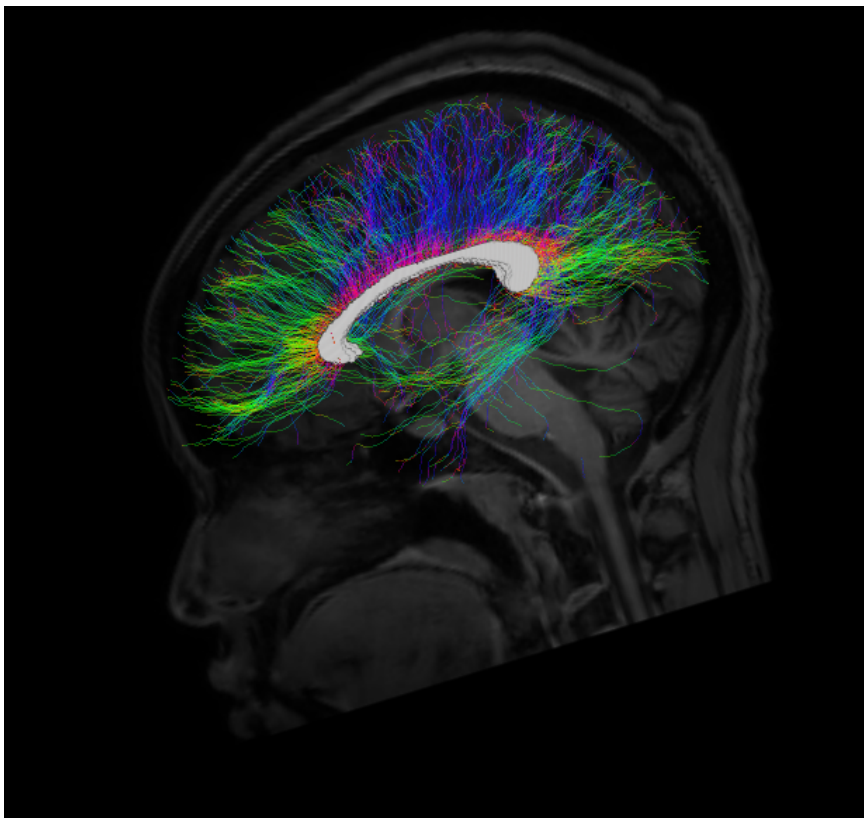
	Coeff.	Odds Ratio (OR)	Intervallo di confidenza OR 95%	Significatività
Intercetta	-0.0129			0.9875
Sesso (maschio)	2.4939	12.108	0.620 – 236.383	0.1000
PSI: totale	2.4939	12.108	0.620 – 236.383	0.1000
CAR: positiva	-2.7163	0.066	0.004 – 1.116	0.0596

Concordanza (nodi concordanti): 84.1%  
 Specificità: 66.7% (p=0,5)  
 Sensibilità: 85.7% (p=0,5)  
 Correttezza (efficienza): 78.3% (p=0,5)

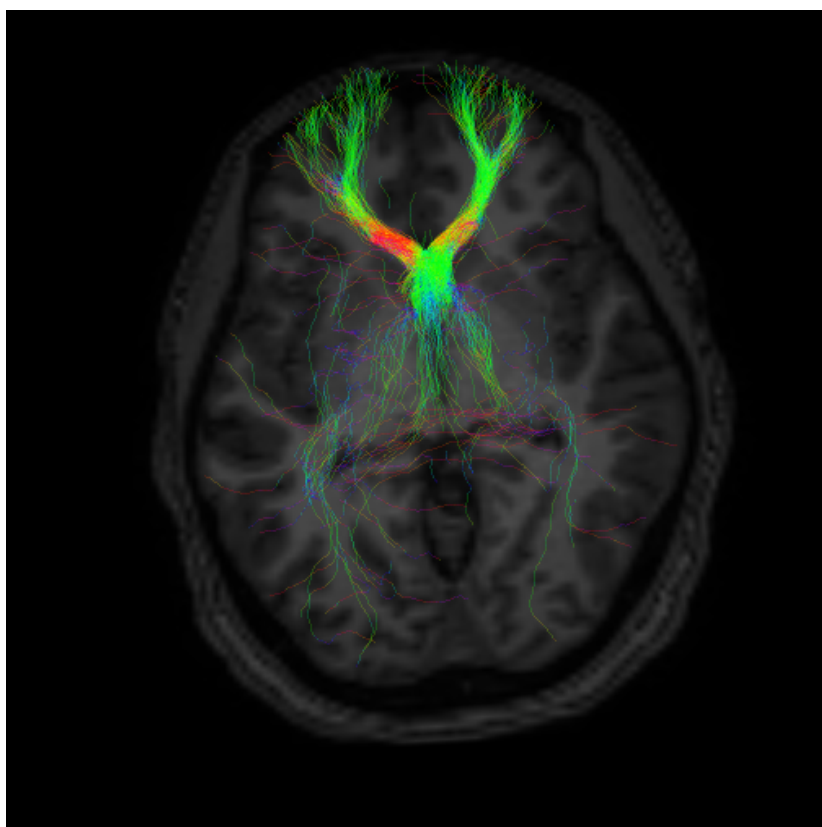
**Tabella 8 - Risultati ottenuti dalla quarta analisi logistica: "bambino con quadro clinico grave" (p=0.0028)**

#### **4. RISULTATI MORFOLOGICI**

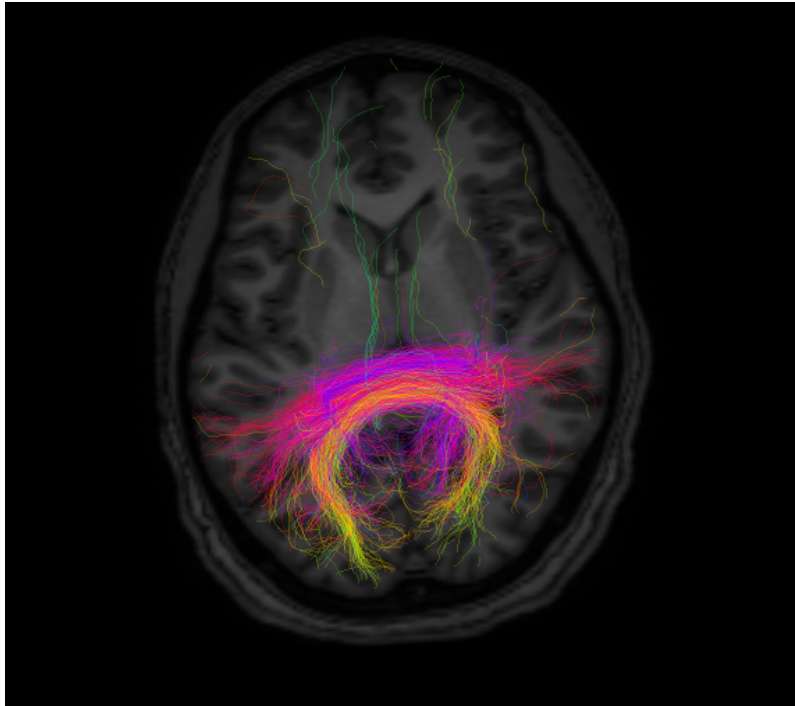
Riportiamo di seguito alcune delle immagini di trattografia (Figure 17-21) ottenute mediante la ricostruzione con fiber-tracking processing del corpo calloso e del fornice, effettuata su immagini di risonanza magnetica acquisite mediante sequenze DTI di una paziente vittima di abuso sessuale selezionata dalla nostra casistica.



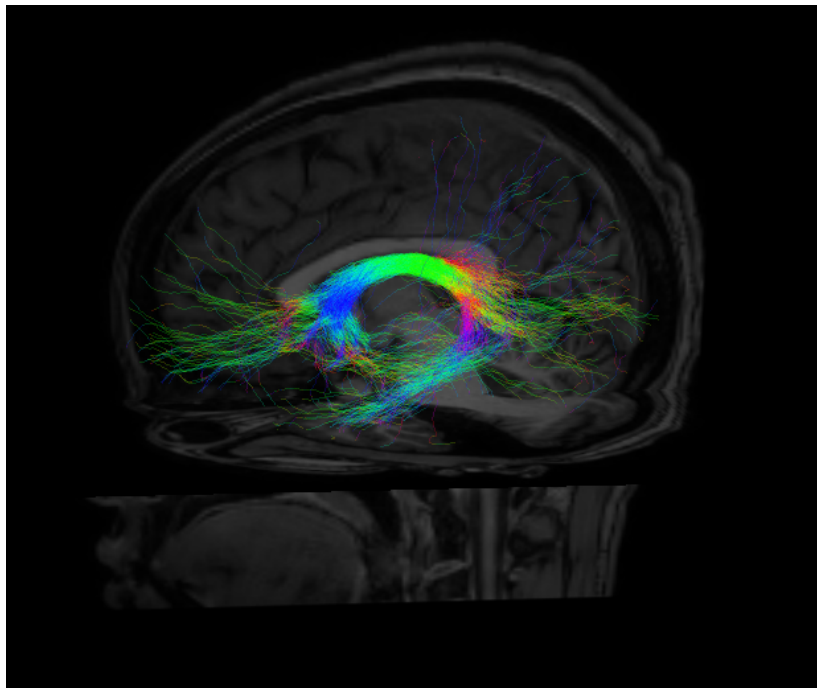
**Figura 17 - Corpo calloso (visione laterale).**



**Figura 18 – Forceps minor.**



**Figura 19 – Forceps major.**



**Figura 20 - Fornice.**



**Figura 21 – Fornice di un controllo sano appaiato per età**

Dall'analisi qualitativa delle immagini non si riscontrano particolari anomalie delle strutture in esame, in relazione al fatto che le alterazioni da ricercare sono di ordine microstrutturale, non essendo il paziente stato esposto ad alcun traumatismo fisico che possa aver determinato un danno macroscopicamente evidente delle strutture cerebrali. Nell'analisi quantitativa dei parametri del tensore di diffusione (FA AD RD) confrontati con quelli di un soggetto sano di pari età non sembrano evidenziarsi differenze marcate di tali valori per quanto riguarda le fibre del corpo calloso. (Tabella 9)

	<b>CASO</b>	<b>CONTROLLO</b>
<b>FA mean</b>	0.528469	0.519357
<b>FA sd</b>	0.183458	0.192025
<b>ADC mean</b>	0.000890625	0.000963206
<b>ADC sd</b>	0.00032565	0.000417984
<b>AD mean</b>	0.0014453	0.00153743
<b>AD sd</b>	0.000400731	0.000499478
<b>RD1 mean</b>	0.000712307	0.000782968
<b>RD1 sd</b>	0.000358023	0.00045196
<b>RD2 mean</b>	0.000514263	0.000569208
<b>RD2 sd</b>	0.000339233	0.0004167

**Tabella 9 – Parametri di trattografia: FA Anisotropia Frazionale, ADC Coefficiente di Diffusione Apparente, AD Diffusività Assiale, RD Diffusività Radiale**



## DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

Il presente studio si prefiggeva l'obiettivo di studiare gli effetti dell'attivazione ripetuta delle vie di risposta allo stress, in relazione ad una condizione di stress acuto e/o cronico, rappresentata nello specifico da una situazione di maltrattamento ai minori. Era nostra intenzione studiare gli effetti di tale attivazione su più livelli, quello morfologico, quello biochimico e quello funzionale, dal momento che la risposta allo stress implica un articolato e complesso coinvolgimento di tali differenti ma interconnessi livelli. Attualmente in letteratura non sono disponibili studi che integrino questi diversi aspetti; inoltre la maggior parte degli studi sullo stress finora effettuati misura gli esiti di situazioni di maltrattamento minorile nel lungo termine, ovvero su popolazioni adulte che hanno subito maltrattamenti in età evolutiva, come è già stato ampiamente esposto nell'Introduzione di questo lavoro. Abbiamo quindi ritenuto che potesse essere interessante andare a valutare l'impatto che ripetute attivazioni della risposta allo stress possono avere sulla salute e sullo sviluppo morfologico, biochimico e funzionale dei minori, bambini e adolescenti, vittime di maltrattamento.

Dal punto di vista morfologico, in base a quanto descritto in letteratura, sappiamo che una continua esposizione a elevate concentrazioni di ormoni della risposta allo stress, il cortisolo in primis, può alterare le strutture cerebrali mielinizzate, conseguentemente ad un blocco della riproduzione delle cellule gliali, fondamentali per un corretto processo di mielinizzazione.<sup>297 298</sup> Partendo da tali premesse abbiamo perfezionato un metodo sperimentale di Risonanza Magnetica con applicazione di sequenze DTI e ricostruzione traggografica per studiare le aree cerebrali maggiormente implicate nella risposta allo stress (il corpo calloso, l'ippocampo, l'amigdala, la corteccia prefrontale, il cervelletto e la corteccia cingolata anteriore) e per lo studio dei fascicoli della sostanza bianca implicati nei circuiti di risposta allo stress. Questa tecnica, evidenziando in maniera mirata le alterazioni microstrutturali dei fasci di sostanza bianca, potrebbe contribuire ad una maggiore comprensione dei meccanismi patogenetici alla base dei disturbi



funzionali associati allo stress. Dei 31 pazienti sottoposti a tale procedura sono stati esposti i risultati relativi ad una paziente vittima di abuso sessuale; dal confronto dei parametri trattografici non sono emerse alterazioni significative tra il nostro caso e il controllo selezionato e ciò può essere interpretato alla luce del fatto che per trovare alterazioni significative sarà necessario aumentare la numerosità campionaria e studiare i parametri di specifici tratti del corpo calloso isolatamente e non quelli medi generali relativi all'intera struttura, com'è stato fatto finora. E' inoltre auspicabile che l'applicazione di tecniche più avanzate ed innovative, consenta una stima qualitativa e quantitativa dell'integrità strutturale dell'encefalo sempre più puntuale e quindi una valutazione precisa dei danni e delle possibilità di recupero nei pazienti sottoposti a gravi stress, acuti e cronici, fornendo elementi oggettivi utili per la diagnosi precoce e la prognosi.

A livello biochimico ci eravamo prefissati lo scopo di valutare le alterazioni del funzionamento dell'asse HPA nella nostra casistica di pazienti pediatrici maltrattati (età 4-17 anni). Da questo punto di vista lo studio s'inserisce in un'area della ricerca scientifica in cui ad oggi vigono un ampio dibattito ed un'elevata discordanza di risultati, fattori che rendono difficile, ma allo stesso tempo stimolante, cimentarsi in quest'ambito. Esperienze traumatiche infantili sono state associate a variazioni nei livelli circadiani di cortisolo, ma non è chiaro quale sia il verso di tale disregolazione dell'asse HPA.<sup>259</sup> Alcuni autori hanno osservato che nei pazienti pediatrici sottoposti ad eventi traumatici recenti si riscontrava una condizione di ipercortisolismo, mentre nei pazienti adulti traumatizzati e nei pazienti pediatrici sottoposti a traumi sia recenti che pregressi si riscontrava un quadro di ipocortisolismo.<sup>484 485</sup> A partire da queste osservazioni la letteratura ha ipotizzato che queste due opposte risposte a livello biochimico rappresentassero due diverse fasi di un processo endocrinologico di adattamento dell'asse HPA: con il ripetersi e l'accumularsi dei traumi subiti, si assiste ad un progressivo calo dei livelli circadiani di cortisolo, passando da un iniziale quadro di ipercortisolismo ad uno successivo di ipocortisolismo. I nostri risultati sembrano inserirsi in questo modello di rischio cumulativo; si sono infatti evidenziati valori eccessivi da un lato e valori molto bassi dall'altro. Tramite l'analisi dei nostri campioni di cortisolo salivare, abbiamo riscontrato innanzitutto un'elevata

variabilità interindividuale dei valori di cortisolo, aspetto che sicuramente rende difficoltosa una standardizzazione ed interpretazione dei risultati. I nostri valori di cortisolo mattutini, infatti, variavano in un range compreso tra 0,5 nMol/l e 42 nMol/l, con un progressivo uniformarsi degli stessi lungo le successive fasi del giorno.

Abbiamo inoltre registrato un particolare andamento della *Cortisol Awakening Response* (CAR); essa, infatti, dovrebbe normalmente esprimersi in un aumento dei valori della misurazione di cortisolo effettuata al risveglio (corrispondente alla nostra C1) del 38-75% durante un arco di tempo di 30 minuti successivi al risveglio (corrispondente alla nostra C2 ).<sup>486</sup> Nella nostra casistica abbiamo riscontrato un andamento molto particolare della CAR, che non corrisponde a quella definita dalla letteratura: su 43 pazienti, solamente 12 hanno mostrato un incremento di C1 superiore al 38% nella mezz'ora seguente e solo 2 di questi presentavano un aumento compreso tra il 38% e il 75%. Incrementi eccessivi, troppo esigui o riduzioni tra C1 e C2 costituiscono uno dei risultati più interessanti di questo studio, che ci hanno portati ad individuare e definire tre tendenze diverse nella risposta mattutina del cortisolo: CAR positiva, CAR negativa e CAR piana, di cui solo la prima viene descritta in letteratura, come la risposta fisiologica dell'individuo sano. Lo studio dell'associazione tra le tre tendenze di CAR e la cronicità, la precocità, la severità e la comorbidità delle diverse forme di maltrattamento diagnosticate nella nostra popolazione ha inoltre confermato il carattere fisiologico della CAR positiva e patologico delle CAR negativa e piane, più spesso associate a quadri diagnostici cronici, precoci e severi.

Per quanto riguarda invece il rapporto cortisolo/cortisone salivare, nella nostra casistica esso non risulta alterato: alterazioni delle concentrazioni di cortisolo salivare dei nostri soggetti non sono pertanto imputabili ad alterazioni dell'attività della 11 $\beta$ HSD tipo 2 a livello delle ghiandole salivari. Gli studi di letteratura disponibili sull'argomento, in effetti, utilizzano tale rapporto in condizioni di stress fisico acuto che non interessano la nostra casistica, sempre contraddistinta da una certa reiterazione.<sup>205 206 207</sup> Solamente i casi di SBS, laddove il bambino arriva in Ospedale anche dopo un unico episodio di scuotimento, potrebbero ben

rappresentare tale condizione; attualmente però non è stato possibile misurare il cortisolo salivare dei bambini con età inferiore ai 4 anni, dal momento che il tampone Salivette non è indicato a tal fine, come già spiegato nei *Materiali e Metodi*.

Inoltre, dall'analisi dei nostri valori e dal loro confronto con i valori di riferimento dello studio longitudinale NIH MRI *Study of Normal Brain Development (Pediatric MRI Study)*, del laboratorio dell'Azienda Ospedaliera di Padova e degli studi di letteratura, appare evidente che l'andamento circadiano della nostra casistica mostra un generale appiattimento, da un lato, e dei picchi eccessivi, dall'altro, collocandosi al di sotto o al di sopra dei valori di cortisolo dei controlli sani. Si può formulare l'ipotesi che questo trend di appiattimento e riduzione dei valori possa rappresentare una fase intermedia del processo di adattamento endocrinologico precedentemente accennato, che può essere inquadrato in un'alterazione del funzionamento dell'asse HPA, a seguito di esperienze stressanti croniche, precoci, severe, plurime. Tali promettenti risultati necessiteranno di ulteriori approfondimenti, attraverso un ampliamento della casistica e il reclutamento di soggetti pediatrici sani, al fine di effettuare uno studio caso-controllo che possa meglio spiegarci il funzionamento biochimico del bambino e dell'adolescente in condizioni di stress acuti e cronici.

Per quanto riguarda l'interpretazione delle principali conseguenze di una situazione di stress associata a maltrattamento ai minori sul piano funzionale del bambino e dell'adolescente, abbiamo adottato la *Child Behavior CheckList (CBCL)*. Alla luce dei dati ottenuti nelle scale sindromiche della CBCL possiamo osservare che i nostri pazienti mostrano alcuni deficit di funzionamento, sia di tipo internalizzante che esternalizzante. La fascia di età 6-18, esposta a maltrattamenti da più tempo, mostra una compromissione decisamente più marcata rispetto alla fascia di età 1,5-5 anni. I numerosi studi di letteratura sugli esiti a lungo termine di eventi stressanti acuti e cronici subiti in età evolutiva, infatti, testimoniano l'elevata compromissione funzionale rappresentata dall'insorgenza di numerosi disturbi psichiatrici.<sup>381 383</sup> E' dunque possibile che la compromissione riscontrata in età scolare e adolescenziale rappresenti un

destino cui potranno incorrere i bambini del gruppo 1,5-5 anni negli anni successivi. I problemi di tipo depressivo, ansioso e di somatizzazione, da un lato, e di tipo aggressivo, oppositivo e deviante, dall'altro rappresentano i problemi emergenti come outcome a breve termine nella nostra casistica. L'insorgenza di questo tipo di disturbi concorda con gli studi di letteratura su adulti con disturbi psichiatrici con la stessa origine (Depressione, Disturbi d'ansia, Disturbo antisociale di personalità, Disturbi da uso di sostanze...) sottoposti a maltrattamenti in età minorile.

Ciò testimonia quanto sia dannoso l'impatto psico-evolutivo dei maltrattamenti in età minorile. Nello specifico abbiamo riscontrato importanti tratti ansioso-depressivi, rappresentativi di tristezza, nervosismo, solitudine, insicurezza, a testimonianza di una situazione problematica di rapporti con le figure di riferimento. La nostra casistica, inoltre, presenta importanti aspetti di ritiro, indice del fatto che i pazienti tendono ad isolarsi, ad essere timidi, tristi e riservati, ad evitare il confronto e la comunicazione verbale dei loro problemi, a socializzare poco con i coetanei, col rischio di venire esclusi dal gruppo di amici, dinamica che ad un'età critica come quella dell'adolescenza, può peggiorare ulteriormente la loro già problematica condizione. In parallelo con la scarsa tendenza ad esprimere ed esternalizzare i propri problemi, i pazienti della nostra casistica mostrano una vulnerabilità alla somatizzazione fisica del loro malessere, con sintomi quali: vomito, patologie cutanee, cefalee, incubi, etc. Il gruppo di pazienti oggetto dello studio ha inoltre mostrato un'elevata tendenza ad assumere un comportamento aggressivo, provocatorio e distruttivo nei confronti di cose o persone, danneggiando oggetti propri e altrui, mostrandosi irrispettoso delle regole sia in un contesto scolastico, sia in un contesto familiare, fenomeni che possono essere interpretati come l'assenza nel soggetto di un oggetto interno buono. Crescendo in contesti abusanti, questi pazienti non vengono a contatto con figure genitoriali sufficientemente buone che gli permettano di introiettare e di identificarsi con sani modelli di comportamento e corretti concetti di limite. Ciò rende difficile l'inserimento e la convivenza con le norme sociali e giustifica l'elevata tendenza dei soggetti maltrattati ad assumere in età adulta condotte devianti e addirittura maltrattanti. La compromissione generalizzata contemporanea di diverse scale

funzionali nei nostri pazienti si è rispecchiata in un elevato tasso simultaneo di problemi totali sia internalizzanti, sia esternalizzanti. La presenza di problemi internalizzanti sono indice del fatto che il bambino vive una condizione di disagio e di conflitto interiore che tende ad esprimere attraverso vissuti depressivi e ansiosi, con comportamenti di ritiro e di isolamento, ma allo stesso tempo la presenza di problemi esternalizzanti indica che il bambino esternalizza il suo disagio con comportamenti di trasgressione delle regole, disattenzione, oppositività e devianza. Altri aspetti funzionali specifici in cui la casistica presa in esame ha mostrato particolare problematicità sono costituiti da un deficit di attenzione; come ampiamente riscontrato in letteratura, infatti, una prolungata esposizione a glucocorticoidi, in relazione alla risposta allo stress che scaturisce da una situazione di maltrattamento ai minori, altera la plasticità neuronale di zone importanti per le funzioni esecutive come la corteccia prefrontale e l'ippocampo, determinando deficit di attenzione visiva e verbale.<sup>393 399</sup>

Tali deficit si manifestano a livello scolastico, come dimostrato dai risultati ottenuti nella Scala delle competenze della CBCL, su cui sicuramente pesano anche le alterazioni del QI, di linguaggio e di memoria che la letteratura ripetutamente associa a condizioni di stress dovuto a maltrattamento,<sup>374 375 376 377 379 380 381 382 383 393 396</sup> Sono quindi frequenti episodi di bocciature e scarse performance nelle materie accademiche, con pesante penalizzazione dei soggetti in relazione al futuro ruolo che essi potranno svolgere nella società. Oltre a quelle scolastiche, risultano molto critiche le diverse sfere delle competenze, con inclusione di quelle sociali, che esprimono il fatto che questi bambini non hanno modo di frequentare gli amici, non partecipano ad attività organizzate, oltre a non svolgere attività ricreative o sport. Queste carenze generalizzate di attività e competenze, scolastiche ed extrascolastiche, sono proprie di bambini trascurati, cioè poco seguiti e poco stimolati dai genitori nelle diverse aree fondamentali per lo sviluppo fisiologico del bambino.

Le correlazioni che abbiamo individuato tra le tendenze della CAR e la CBCL mostrano che le CAR negative sono correlate ai funzionamenti più patologici. Per migliorare la significatività di tali correlazioni saranno necessarie indagini che considerino un maggior numero di soggetti e l'utilizzo di test più approfonditi che

valutino lo sviluppo funzionale del bambino in specifiche aree, quali la memoria, l'attenzione, le emozioni.

L'analisi dello stress genitoriale eseguita utilizzando il PSI ha dimostrato che i livelli di stress dei genitori di bambini con diagnosi di maltrattamento sono abbastanza elevati. Lo stress è percepito dai genitori soprattutto in riferimento ai comportamenti del bambino, per quanto riguarda le madri, e all'interazione genitore-bambino, per quanto riguarda i padri. L'elevata difesa registrata nella compilazione del test, motiva, la presenza di alcuni profili eccessivamente bassi di stress, spesso espressi dai genitori più patologici e meno consapevoli. Questo atteggiamento, che rende particolarmente difficile la presa in carico dei nuclei familiari maltrattanti, è interpretabile in tre diversi modi. La prima ipotesi è che il genitore sta cercando di dare di sé l'immagine di un individuo competente, e libero anche da quel livello di stress normalmente associato al ruolo stesso di genitore. Ciò è verosimile quando il genitore non vuole ammettere le frustrazioni e le pressioni che l'essere genitori comporta. Il profilo in questione è quella di un individuo che vuole mostrare di avere la situazione sotto controllo e che nega la realtà, ovvero che l'essere genitori è una mansione impegnativa. La seconda ipotesi prevede invece che il genitore non si senta investito del proprio ruolo e che di conseguenza non sperimenti il normale stress associato al prendersi cura di un bambino. Questa seconda ipotesi è verosimile quando il genitore non è coinvolto nell'accudimento del figlio ed è ignaro della storia clinica del bambino. Come ultima ipotesi può essere che tale risposta difensiva sia effettivamente l'immagine di un individuo che è molto competente e che regge bene le responsabilità dell'essere genitore. Lo studio del livello di stress genitoriale è di interesse in quanto può permettere di identificare precocemente particolari situazioni familiari pregiudicanti lo sviluppo del bambino, e a rischio di diventare contesti familiari maltrattanti. È infatti noto come eccessivi livelli di stress parentale, possano esacerbare tensioni familiari preesistenti e sfociare talvolta in agiti maltrattanti. Abbiamo potuto constatare che i genitori della nostra casistica hanno delle relazioni disfunzionali con i loro figli, il legame genitore-bambino è minacciato o non è mai stato correttamente stabilito e i genitori non percepiscono il figlio come rispondente alle proprie aspettative. Essi vivono con un forte livello di stress il

loro essere genitori, ma tendono a deresponsabilizzarsi rispetto a questa condizione e sono propensi a imputare la causa dei propri problemi al figlio. Abbiamo quindi potuto osservare come un'elevata quota di genitori maltrattanti tenda ad assumere una risposta difensiva, tendendo a presentare se stessi e i propri figli meglio di come essi siano in realtà, come modelli ideali, negando ogni difetto o problematicità, minimizzando lo stress e i problemi nella relazione col figlio.

Non va infine trascurato l'aspetto della negazione della propria situazione di stress da parte del genitore stesso, come confermato dai risultati ottenuti al SCL-90-R, che spesso non coincidevano con le osservazioni cliniche effettuate dagli operatori che hanno effettuato la presa in carico diagnostica dei nuclei familiari in oggetto. Nella maggior parte delle forme di maltrattamento, il genitore tende a negare e a minimizzare il fatto di essere non solo il maltrattamento compiuto, ma anche di essere eccessivamente stressato e psicologicamente compromesso.<sup>480 481</sup>

esemplificativo a tal proposito è il fatto che, dal confronto effettuato tra il profilo psicologico dei genitori maltrattanti e non maltrattanti, emerge che i profili psicologici, seppur simili, sono peggiori per i genitori non maltrattanti. Tale peculiare risultato può essere spiegato dal fatto che il genitore maltrattante tende a negare anche le difficoltà relative alla propria salute psicologica, a differenza del genitore non maltrattante che è più disposto ad ammetterla e a farsi aiutare. Inoltre, spesso il genitore non maltrattante soffre per la condizione del figlio maltrattato, mostrando un quadro psicologico clinico peggiore reattivo alla condizione di stress familiare acuta e/o cronica. Il genitore maltrattante, invece, non è preoccupato per il figlio che lui stesso ha maltrattato ma piuttosto è incentrato su se stesso e sulla difesa dagli attacchi narcisistici che la diagnosi di maltrattamento, e la successiva messa in discussione personale e familiare, comporta.

In generale i genitori della nostra casistica presenta un certo grado di problemi psicologici ad un livello borderline, nonostante la presenza anche di punteggi clinici. Le problematiche psicologiche emergenti sono la depressione, l'ideazione paranoide, i disturbi d'ansia e la somatizzazione. Sono presenti, seppur in percentuale inferiore, anche disturbi relativi alla sensibilità nei rapporti interpersonali, all'ostilità e allo psicoticismo. Non sono presenti studi di

letteratura sul profilo psicologico dei genitori di bambini con diagnosi di maltrattamento, motivo per cui tali dati risultano di grande valore. La difficoltà di costruire un'alleanza con questi genitori, la maggior parte dei quali è maltrattante e quindi causa della diagnosi del bambino, dà ancora maggior valore ai dati ottenuti dalla somministrazione dei diversi test funzionali sul comportamento del bambino, sullo stress genitoriale e sulla loro salute psicologica. In letteratura infatti non si riscontrano altri studi di questo tipo su popolazioni maltrattanti, ma solo su popolazioni di genitori di pazienti con problematiche neuropsichiatriche.

Le analisi bivariate tra la CBCL e le altre misurazioni psicologiche effettuate sui genitori (PSI e SCL-90-R) dimostra che i bambini più funzionali sono quelli inseriti in un contesto familiare in cui il genitore presenta minore stress e di maggior salute psicologica, confermando l'associazione tra la compromissione funzionale del bambino, lo stress genitoriale e la salute psicologica del genitore. Tale associazione si fonda sulla comune radice di tali problemi, ovvero lo stress individuale e familiare presente e circolante nei nuclei che compongono la nostra casistica. Stress che inevitabilmente impatta a più livelli, non solo il minore ma anche le figure di riferimento, costituendo al tempo stesso causa ed effetto del maltrattamento.

L'analisi multivariata effettuata, nonostante l'esiguo numero di pazienti, presenta dei risultati interessanti in relazione alle variabili predittive di quadri clinici gravi nei bambini sottoposti a maltrattamenti. Il genere maschile, il maltrattamento fisico, l'elevato stress genitoriale costituiscono fattori di rischio di un impatto funzionale peggiore, contraddistinto da un grave quadro clinico (comportamentale, psicologico, cognitivo e affettivo) del minore. Una CAR positiva si conferma come risposta fisiologica proteggente in tal senso, dimostrando che un corretto funzionamento dell'asse HPA permette al soggetto di rispondere in modo adattivo a condizioni altamente stressanti. Sarà interessante ripetere le stesse analisi su una popolazione più vasta ed includervi anche le misurazioni morfologiche, finora solo approntate ma non ancora ultimate sulla popolazione in oggetto.



In conclusione, il maltrattamento ai minori rappresenta una forma di stress che determina un impatto sullo sviluppo del bambino a livello morfologico, biochimico e funzionale. Comprendere la correlazione tra lo stress a cui un paziente è soggetto e i suoi parametri morfologici, biochimici e funzionali rappresenta un fattore clinicamente utile nella valutazione globale dei pazienti pediatrici vittime di maltrattamento e dei loro genitori. Tale impatto pregiudica in modo importante e articolato il fisiologico e armonioso sviluppo del soggetto e della sua famiglia, che richiedono una lunga presa in carico da parte dei servizi di sanità pubblica e sociali-sanitari del territorio. È di pubblico interesse che i casi di maltrattamento minorile siano prevenuti e precocemente diagnosticati, in modo tale da compiere il prima possibile la presa in carico sia dei bambini che dei genitori, sia delle vittime che dei perpetratori.

## ALLEGATO A

NUMERO PROVETTA	ORA INDICATIVA DI SOMMINISTRAZIONE	ORA EFFETTIVA DI SOMMINISTRAZIONE
1	Al risveglio	h.
2	30' dopo il risveglio	h.
3	Prima di pranzo	h.
4	A metà pomeriggio	h.
5	Prima di cena	h.
6	Prima di dormire	h.

### AVVERTENZE:

- ❖ NON ASSUMERE CIBI E BEVANDE nelle 2 ore precedenti ad ogni raccolta, SOLO ACQUA
- ❖ NON assumere liquirizia il giorno della raccolta
- ❖ NON lavarsi i denti poco prima della raccolta
- ❖ NON fumare il giorno della raccolta



## BIBLIOGRAFIA

- 
- <sup>1</sup> Monaghan P, Spencer KA. Stress and life history. *Curr Biol.* 2014;24(10):R408-12.
  - <sup>2</sup> Bottaccioli F (a cura di). *Stress e vita: La scienza dello stress e la scienza della salute alla luce della Psiconeuroendocrinoimmunologia.* Nuovo paradigma, Milano 2012.
  - <sup>3</sup> Castiglioni, Mariotti. *IL, Vocabolario della lingua latina.* Loescher, 2007.
  - <sup>4</sup> Keil RM. Coping and stress: a conceptual analysis. *J Adv Nurs.* 2004 Mar;45(6):659-65.
  - <sup>5</sup> McEwen BS. Physiology and Neurobiology of Stress and Adaptation: Central Role of the Brain. *Physiol Rev.* 2007;87(3):873-904.
  - <sup>6</sup> Selye H. A syndrome produced by diverse nocuous agents. 1936. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci.* 1998;10(2):230-1.
  - <sup>7</sup> Dygalo NN. Stress concept in the centennial of Hans Selye. *Usp Fiziol Nauk.* 2007;38(4):100-2.
  - <sup>8</sup> Szabo S, Tache Y, Somogyi A. The legacy of Hans Selye and the origins of stress research: a retrospective 75 years after his landmark brief "letter" to the editor of nature. *Stress.* 2012;15(5):472-8.
  - <sup>9</sup> Selye H. Forty years of stress research: principal remaining problems and misconceptions. *Can Med Assoc J.* 1976;115(1):53-6.
  - <sup>10</sup> Atkinson, Hilgard. *Introduzione alla psicologia.* Piccin, Padova 2011.
  - <sup>11</sup> Gozhenko AI, Gurkalova IP, Zukow W, Kwasnik Z, Mroczkowska B. *Pathology: Medical student's library.* Walery Zukow. Radom 2009.
  - <sup>12</sup> Perdrizet GA. Hans Selye and beyond: responses to stress. *Cell Stress Chaperones.* 1997;2(4):214-9.
  - <sup>13</sup> McEwen BS. Stressed or stressed out: what is the difference? *J Psychiatry Neurosci.* 2005 Sep;30(5):315-8.
  - <sup>14</sup> Ganzel BL, Morris PA, Wethington E. Allostasis and the human brain: Integrating models of stress from the social and life sciences. *Psychol Rev.* 2010;117(1):134-74.

- 
- <sup>15</sup> Kopin IJ. Definitions of stress and sympathetic neuronal responses. *Ann N Y Acad Sci.* 1995;771:19-30.
- <sup>16</sup> Goldstein DS. Adrenal responses to stress. *Cell Mol Neurobiol.* 2010;30(8):1433-40.
- <sup>17</sup> Goldstein DS, Kopin IJ. Evolution of concepts of stress. *Stress.* 2007;10(2):109-20.
- <sup>18</sup> Cooper SJ. From Claude Bernard to Walter Cannon. Emergence of the concept of homeostasis. *Appetite.* 2008;51(3):419-27.
- <sup>19</sup> Sterling P, Eyer J. Allostasis: a new paradigm to explain arousal pathology. Fisher S, Reason J (Eds.). *Handbook of Life Stress, Cognition and Health.* New York 1988.
- <sup>20</sup> McEwen BS. Protective and damaging effects of stress mediators. *N Engl J Med.* 1998;338(3):171-9.
- <sup>21</sup> McEwen BS, Stellar E. Stress and the individual. Mechanisms leading to disease. *Arch Intern Med.* 1993;153(18):2093-101.
- <sup>22</sup> McEwen BS, Wingfield JC. The concept of allostasis in biology and biomedicine. *Horm Behav.* 2003;43(1):2-15.
- <sup>23</sup> Lazarus RS, Folkman S. *Stress, Appraisal, and Coping.* Springer. New York, NY 1984.
- <sup>24</sup> Berjot S, Gillet N. Stress and coping with discrimination and stigmatization. *Front Psychol.* 2011;2:33.
- <sup>25</sup> Lupis SB, Lerman M, Wolf JM. Anger responses to psychosocial stress predict heart rate and cortisol stress responses in men but not women. *Psychoneuroendocrinology.* 2014;49C:84-95.
- <sup>26</sup> Pancheri P. (1993). *Stress, emozioni, malattia. Introduzione alla medicina psicosomatica.* Mondadori, Milano.
- <sup>27</sup> Lazarus RS (1998). *Fifty years of the research and theory of R. S. Lazarus. An analysis of historical and perennial issues.* Mahwah, New Jersey: Lawrence Erlbaum Associates.
- <sup>28</sup> Lazarus RS. Coping theory and research: Past, present and future. *Psychosomatic medicine.* 1993;55:237-47.

- 
- <sup>29</sup> Lazarus RS, Folkman S (1984). *Stress, appraisal and coping*. Springer, New York.
- <sup>30</sup> Wallston KA, Stein MJ, Smith CA. Form C of the MHLC scales: A condition-specific measure of locus of control. *Journal of Personality Assessment*. 1994;63, 534-553.
- <sup>31</sup> Zeidner M, Saklofske D. (1996). Adaptive and maladaptive coping. In Zeidner M, Endler NS, *Handbook of coping. Theory, research, applications*. 505-531. John Wiley and Sons, Inc.
- <sup>32</sup> Klueff AV, Tuohimaa P. Experimental modeling of anxiety and depression. *Acta neuro-biologiae experimentalis (wars)*. 2004;64:439-448.
- <sup>33</sup> Kaufman J, Zigler E. Do abused children become abusive parents? *Am. J. Orthopsychiatry* 1987;57(2):186-192.
- <sup>34</sup> Ufficio Regionale Europeo dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (2013). *Rapporto europeo sulla prevenzione del maltrattamento dei bambini - sommario*.
- <sup>35</sup> World Health Organisation. *Report of the Consultation on Child Abuse Prevention*. WHO: Geneva, 29-31 March 1999.
- <sup>36</sup> Krugman R.D. The media and public awareness of child abuse and neglect: it's time for a change. *Child Abuse Negl.* 1996; 20 (4): 259-260.
- <sup>37</sup> Kempe CH, Silverman FN, Steele BF, Droegemueller W Silver HK. The battered-child syndrome. Landmark article 1962, Journal of the American Medical Association. *Child Abuse Negl.* 1985;9(2):143-54.
- <sup>38</sup> Gough D. Defining the problem. *Child Abuse Negl.* 1996 ;20(11):993-1002.
- <sup>39</sup> Sito web: [www.who.int](http://www.who.int).
- <sup>40</sup> Norman RE, Byambaa M, De R, Butchart A, Scott J, Vos T. The long-term health consequences of child physical abuse, emotional abuse, and neglect: a systematic review and meta-analysis. *PLoS Med.* 2012;9(11):e1001349.
- <sup>41</sup> Sito web: [www.who.int/classifications/icd/en/](http://www.who.int/classifications/icd/en/).
- <sup>42</sup> Hobbs CJ. ABC of child abuse. Fractures. *BMJ.* 1989 15;298(6679):1015-8.
- <sup>43</sup> Hobbs CJ. ABC of child abuse. Burns and scalds. *BMJ.* 1989;298(6683):1302-5.
- <sup>44</sup> Meadow R. ABC of child abuse. *BMJ.* 1989.

- 
- 45 Gallo-Silver L, Anderson CM, Romo J. Best clinical practices for male adult survivors of childhood sexual abuse: "do no harm". *Perm J*. 2014 Summer;18(3):82-7.
- 46 Carbaugh SF: Understanding Shaken Baby Syndrome. *Advances in Neonatal Care*. 2004; 4:105-116.
- 47 Gardner HB. Challenging the Pathophysiologic Connection between Subdural Hematoma, Retinal Hemorrhage, and Shaken Baby Syndrome. *West J Emerg Med*. 2012 Dec;13(6):535-541.
- 48 Lancon JA, Haines DE, Parent AD. Anatomy of the Shaken Baby Syndrome. *The New Anatomist*. 1998; 253:13-18.
- 49 Sito web: [www.osservatoriopedofilia.gov.it](http://www.osservatoriopedofilia.gov.it).
- 50 Morrell B, Tilley DS. The role of nonperpetrating fathers in Munchausen syndrome by proxy: a review of the literature. *J Pediatr Nurs*. 2012;27(4):328-35.
- 51 Scheuerman O, Grinbaum I, Garty BZ. Münchausen syndrome by proxy. *Harefuah*. 2013 ;152(11):639-42
- 52 Meadow R. ABC of child abuse. Munchausen syndrome by proxy. *BMJ*. 1989;299(6693):248-50.
- 53 Sheridan MS. The deceit continues: an updated literature review of Munchausen Syndrome by Proxy. *Child Abuse Negl*. 2003;27(4):431-51.
- 54 Trickett PK, McBride-Chang C. The developmental impact of different forms of child abuse and neglect. *Developmental Review*. 1995;15:311-337.
- 55 Facchin P. Le diagnosi di maltrattamento. *Quaderni del Centro Nazionale di documentazione ed Analisi sull'Infanzia e l'Adolescenza*. Firenze. 1998.
- 56 Zielinski DS. Child maltreatment and adult socioeconomic well-being. *Child Abuse Negl*. 2009;33(10):666-78.
- 57 Djeddah C, Facchin P, Ranzato C, Romer C. Child abuse: current problems and key public health challenges. *Soc Sci Med*. 2000;51(6):905-15.
- 58 Belli H. Dissociative symptoms and dissociative disorders comorbidity in obsessive compulsive disorder: Symptom screening, diagnostic tools and reflections on treatment. *World J Clin Cases*. 2014;2(8):327-31.

- 
- <sup>59</sup> Edwards VJ, Holden GW, Felitti VJ, Anda RF. Relationship between multiple forms of childhood maltreatment and adult mental health in community respondents: results from the adverse childhood experiences study. *Am J Psychiatry*. 2003;160(8):1453-60.
- <sup>60</sup> Tietjen GE, Brandes JL, Peterlin BL, Eloff A, Dafer RM, Stein MR, Drexler E, Martin VT, Hutchinson S, Aurora SK, Recober A, Herial NA, Utley C, White L, Khuder SA. Childhood maltreatment and migraine (part I). Prevalence and adult revictimization: a multicenter headache clinic survey. *Headache*. 2010Jan;50(1):20-31.
- <sup>61</sup> Tietjen GE, Brandes JL, Peterlin BL, Eloff A, Dafer RM, Stein MR, Drexler E, Martin VT, Hutchinson S, Aurora SK, Recober A, Herial NA, Utley C, White L, Khuder SA. Childhood maltreatment and migraine (part II). Emotional abuse as a risk factor for headache chronification. *Headache*. 2010;50(1):32-41.
- <sup>62</sup> Tietjen GE, Brandes JL, Peterlin BL, Eloff A, Dafer RM, Stein MR, Drexler E, Martin VT, Hutchinson S, Aurora SK, Recober A, Herial NA, Utley C, White L, Khuder SA. Childhood maltreatment and migraine (part III). Association with comorbid pain conditions. *Headache*. 2010;50(1):42-51.
- <sup>63</sup> Häuser W, Kosseva M, Üceyler N, Klose P, Sommer C. Emotional, physical, and sexual abuse in fibromyalgia syndrome: a systematic review with meta-analysis. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2011;63(6):808-20.
- <sup>64</sup> Chen LP, Murad MH, Paras ML, Colbenson KM, Sattler AL, Goranson EN, Elamin MB, Seime RJ, Shinozaki G, Prokop LJ, Zirakzadeh A. Sexual abuse and lifetime diagnosis of psychiatric disorders: systematic review and meta-analysis. *Mayo Clin Proc*. 2010;85(7):618-29.
- <sup>65</sup> Pynoos RS, Steinberg AM, Layne CM, Briggs EC, Ostrowski SA, Fairbank JA. DSM-V PTSD diagnostic criteria for children and adolescents: a developmental perspective and recommendations. *J Trauma Stress*. 2009;22(5):391-8.
- <sup>66</sup> Klevens J, Barnett SB, Florence C, Moore D. Exploring policies for the reduction of child physical abuse and neglect. *Child Abuse Negl*. 2014 Aug 11.pii: S0145-2134(14)00273-7.



- 
- <sup>67</sup> Manciaux M, Gabel M, Girodet D, Mignot C, Rouyet M. *Enfances en danger*. Ed. Fleurus, Paris, 1997.
- <sup>68</sup> Kent A, Waller G. The impact of childhood emotional abuse: an extension of the Child Abuse and Trauma Scale. *Child Abuse Negl.* 1998;22(5):393-399.
- <sup>69</sup> Tomkiewicz S. Psychological mechanism of violent behavior against children. *Child Abuse Negl.* 1998;22(10):947-957.
- <sup>70</sup> Aber JL, Bennett NG, Conley DC, Li J. The effects of poverty on child health and development. *Annu. Rev. Public Health* 1997;18:463-483.
- <sup>71</sup> Gillham B, Tanner G, Cheyne B, Freeman I, Rooney M, Lambie A. Unemployment rates, single parent density, and indices of child poverty: their relationship to different categories of child abuse and neglect. *Child Abuse Negl.* 1998;22(2):79-90.
- <sup>72</sup> Kerns DL. Establishing a medical research agenda for child sexual abuse. Historical perspective and executive summary. *Child Abuse Negl.* 1998;22(6):453-465.
- <sup>73</sup> Runyan DK. Prevalence, risk, sensitivity, and specificity: a commentary on the epidemiology of child sexual abuse and the development of a research agenda. *Child Abuse Negl.* 1998;22(6):493-498.
- <sup>74</sup> Garbarino J, Kostelny K. Child maltreatment as a community problem. *Child Abuse Negl.* 1992;16(4):455-64.
- <sup>75</sup> Johnson CF. Inflicted injury versus accidental injury. *Pediatr Clin North Am.* 1990;37(4):791-814.
- <sup>76</sup> Legano L, McHugh MT, Palusci VJ. Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care. *Child abuse and neglect.* 2009;39(2):31.e1-26.
- <sup>77</sup> Smith A. Nonaccidental injury in childhood. *Aust Fam Physician.* 2011;40(11):858-61.
- <sup>78</sup> Cuesta JM, Singer M. The stress response and critical illness: a review. *Crit Care Med.* 2012;40(12):3283-9.
- <sup>79</sup> Geenen R1, Van Middendorp H, Bijlsma JW. Ann N Y The impact of stressors on health status and hypothalamic-pituitary-adrenal axis and

- 
- autonomic nervous system responsiveness in rheumatoid arthritis. *Acad Sci.* 2006;1069:77-97.
- 80 Priyadarshini S, Aich P. Effects of psychological stress on innate immunity and metabolism in humans: a systematic analysis. *PLoS One.* 2012;7(9).
- 81 Gunnar M1, Quevedo K. The neurobiology of stress and development. *Annu Rev Psychol.* 2007;58:145-73.
- 82 Teicher HB, Kofoed-Hansen B, Jacobsen N. Insecticidal activity of the enantiomers of fipronil. *Pest Manag Sci.* 2003;59(12):1273-5.
- 83 Arseneault L1, Moffit TE, Caspi A, Taylor A. The targets of violence committed by young offenders with alcohol dependence, marijuana dependence and schizophrenia-spectrum disorders: findings from a birth cohort. *Crim Behav Ment Health.* 2002;12(2):155-68.
- 84 Lupien SJ, McEwen BS, Gunnar MR, Heim C. Effects of stress throughout the lifespan on the brain, behaviour and cognition. *Nat Rev Neurosci.* 2009;10(6):434-45.
- 85 McCrory EJ, De Brito SA, Sebastian CL, Mechelli A, Bird G, Kelly PA, Viding E. Heightened neural reactivity to threat in child victims of family violence. *Curr Biol.* 2011;6;21(23):R947-8.
- 86 Fisher PA, Pfeifer JH. Conceptual and methodological issues in neuroimaging studies of the effects of child maltreatment. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 2011;165(12):1133-4.
- 87 Miller AH. Elucidating the consequences of chronic stress on immune regulation and behavior in rheumatoid arthritis. *Brain Behav Immun.* 2008;22(1):22-3.
- 88 De Bellis MD, Baum AS, Birmaher B, Keshavan MS, Eccard CH, Boring AM, Jenkins FJ, Ryan ND. A.E. Bennett Research Award. Developmental traumatology. Part I: Biological stress systems. *Biol Psychiatry.* 1999;45(10):1259-70.
- 89 Vythilingam M, Heim C, Newport J, Miller AH, Anderson E, Bronen R, Brummer M, Staib L, Vermetten E, Charney DS, Nemeroff CB, Bremner JD. Childhood trauma associated with smaller hippocampal volume in women with major depression. *Am J Psychiatry.* 2002;159(12):2072-80.

- 
- <sup>90</sup> Vermetten E, Vythilingam M, Schmahl C, DE Kloet C, Southwick SM, Charney DS, Bremner JD. Alterations in stress reactivity after long-term treatment with paroxetine in women with posttraumatic stress disorder. *Ann N Y Acad Sci.* 2006;1071:184-202.
- <sup>91</sup> Woon FL, Hedges DW. Hippocampal and amygdala volumes in children and adults with childhood maltreatment-related posttraumatic stress disorder: a meta-analysis. *Hippocampus.* 2008;18(8):729-36.
- <sup>92</sup> Vyas AI, Bernal S, Chattarji S. Effects of chronic stress on dendritic arborization in the central and extended amygdala. *Brain Res.* 2003;965(1-2):290-4.
- <sup>93</sup> Egerton A, Mehta MA, Montgomery AJ, Lappin JM, Howes OD, Reeves SJ, Cunningham VJ, Grasby PM. The dopaminergic basis of human behaviors: A review of molecular imaging studies. *Neurosci Biobehav Rev.* 2009;33(7):1109-32.
- <sup>94</sup> Tottenham N, Sheridan MA. A review of adversity, the amygdala and the hippocampus: a consideration of developmental timing. *Front Hum Neurosci.* 2010;3:68.
- <sup>95</sup> Grassi-Oliveira R, Ashy M, Stein LM. Psychobiology of childhood maltreatment: effects of allostatic load? *Rev Bras Psiquiatr.* 2008;30(1):60-8.
- <sup>96</sup> McEwen BS. Physiology and neurobiology of stress and adaptation: central role of the brain. *Physiol Rev.* 2007;87(3):873-904.
- <sup>97</sup> Swaab DF1, Bao AM, Lucassen PJ. The stress system in the human brain in depression and neurodegeneration. *Ageing Res Rev.* 2005;4(2):141-94.
- <sup>98</sup> Allen AP, Kennedy PJ, Cryan JF, Dinan TG, Clarke G. Biological and psychological markers of stress in humans: focus on the Trier Social Stress Test. *Neurosci Biobehav Rev.* 2014;38:94-124.
- <sup>99</sup> Ulrich-Lai YM, Herman JP. Neural regulation of endocrine and autonomic stress responses. *Nat. Rev. Neurosci.* 2009;10:397-409.
- <sup>100</sup> Sapolsky RM, Romero LM, Munck AU. How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. *Endocr Rev.* 2000;21(1):55-89.

- 
- <sup>101</sup> Minton JE. Function of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and the sympathetic nervous system in models of acute stress in domestic farm animals. *J Anim Sci.* 1994;72(7):1891-8.
- <sup>102</sup> Guyton AC, Hall JE. *Fisiologia Medica*. Seconda edizione. EdiSES, Napoli 2007.
- <sup>103</sup> Ganong WF. *Fisiologia Medica*. Settima edizione italiana. The McGraw-Hill Companies. Padova 2006.
- <sup>104</sup> Kvetnansky R, Sabban EL, Palkovits M. Catecholaminergic Systems in Stress: Structural and Molecular Genetic Approaches. *Physiological.* 2009;89(2):535-606
- <sup>105</sup> McCarthy AM, Hanrahan K, Kleiber C, Zimmerman MB, Lutgendorf S, Tsalikian E. Normative salivary cortisol values and responsivity in children. *Appl Nurs Res.* 2009 ;22(1):54-62.
- <sup>106</sup> Wang Q, Wang M, Whim MD. Neuropeptide y gates a stress-induced, long-lasting plasticity in the sympathetic nervous system. *J Neurosci.* 2013;33(31):12705-17.
- <sup>107</sup> Sapolsky RM. Stress hormones: good and bad. *Neurobiol Dis.* 2000;7(5):540-2.
- <sup>108</sup> Jameison K, Dinan TG. Glucocorticoids and cognitive function: from physiology to pathophysiology. *Hum Psychopharmacol.* 2001;16(4):293-302.
- <sup>109</sup> Stephens MA, Wand G. Stress and the HPA axis: role of glucocorticoids in alcohol dependence. *Alcohol Res.* 2012;34(4):468-83.
- <sup>110</sup> Ferone D, Pivonello C, Vitale G, Zatelli MC, Colao A, Pivonello R. Molecular basis of pharmacological therapy in Cushing's disease. *Endocrine.* 2014;46(2):181-98.
- <sup>111</sup> Boron WF, Boulpaep EL. *Medical Physiology*. 2nd edition. Elsevier. 2011.
- <sup>112</sup> Adinoff B, Junghanns K, Kiefer F, Krishnan-Sarin S. Suppression of the HPA axis stress-response: implications for relapse. *Alcohol Clin Exp Res.* 2005;29(7):1351-5.
- <sup>113</sup> Lovallo WR. Cortisol secretion patterns in addiction and addiction risk. *Int J Psychophysiol.* 2006;59(3):195-202.

- 
- <sup>114</sup> Levy BH, Tasker JG. Synaptic regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and its modulation by glucocorticoids and stress. *Frontiers in Cellular Neurosci.* 2012;6:24.
- <sup>115</sup> Wüst S, Van Rossum EF, Federenko IS, Koper JW, Kumsta R, Hellhammer DH. Common polymorphisms in the glucocorticoid receptor gene are associated with adrenocortical responses to psychosocial stress. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004 ;89(2):565-73.
- <sup>116</sup> Kirschbaum C, Hellhammer DH. Salivary cortisol. *Encyclopedia of Stress.* 2nd edition. 2007;405-409.
- <sup>117</sup> Sarett LH. Partial synthesis of pregnene-4-triol-17( $\beta$ ), 20( $\beta$ ), 21-dione-3, 11 and pregnene-4-diol-17( $\beta$ ),21-trione-3,11,20 monoacetate. *J Biol Chem.* 1946;162:601–31.
- <sup>118</sup> Polley HF, Slocumb CH. Behind the scenes with cortisone and ACTH. *Mayo Clin Proc.* 1976;51:471–7.
- <sup>119</sup> Saenger AK. Discovery of the wonder drug: from cows to cortisone. The effects of the adrenal cortical hormone 17-hydroxy-11-dehydrocorticosterone (Compound E) on the acute phase of rheumatic fever; preliminary report. *Clin Chem.* 2010;56(8):1349-50.
- <sup>120</sup> Howard LD, Pratt DR, Bunnell S. The use of compound F (hydrocortone) in operative and non-operative conditions of the hand. *J Bone Joint Surg Am.* 1953;35(4):994–1002.
- <sup>121</sup> Cooney WP 3rd. Compound f: the history of hydrocortisone and hand surgery. *J Hand Surg Am.* 2013;38(4):774-8.
- <sup>122</sup> Gekle M, Grossmann C. Actions of aldosterone in the cardiovascular system: the good, the bad, and the ugly? *Pflugers Arch.* 2009;458(2):231-46.
- <sup>123</sup> Srinivasan S, Shariff M, Bartlett SE. The role of the glucocorticoids in developing resilience to stress and addiction. *Front Psychiatry.* 2013;4:68.
- <sup>124</sup> Nicolaides NC, Galata Z, Kino T, Chrousos GP, Charmandari E. The human glucocorticoid receptor: molecular basis of biologic function. *Steroids.* 2010;75(1):1-12.

- 
- 125 Clark JK, Schrader WT, O'Malley BW. Mechanism of steroid hormones. Wilson JD, Foster DW (Eds.), *Williams textbook of endocrinology*, WB Sanders Co., Philadelphia. 1992:35–90
- 126 Chrousos GP, Charmandari E, Kino T. Glucocorticoid action networks—an introduction to systems biology. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89(2):563-4.
- 127 Chrousos GP. The glucocorticoid receptor gene, longevity, and the complex disorders of Western societies. *Am J Med.* 2004;117(3):204-7.
- 128 Wiley J. *International Textbook of Obesity*. Per Bjorntorp. Chichester. 2001.
- 129 Sherwood L. *Human Physiology From Cells to Systems*. 7th Edition. Thomson Brooks Cole. 2010.
- 130 Galon J, Franchimont D, Hiroi N, Frey G, Boettner A, Ehrhart-Bornstein M, O'Shea JJ, Chrousos GP, Bornstein SR. Gene profiling reveals unknown enhancing and suppressive actions of glucocorticoids on immune cells. *FASEB J.* 2002;16(1):61-71.
- 131 Miller WL, Auchus RJ. The molecular biology, biochemistry, and physiology of human steroidogenesis and its disorders. *Endocr Rev.* 2011;32(1):81-151.
- 132 Xing Y, Edwards MA, Ahlem C, Kennedy M, Cohen A, Gomez-Sanchez CE, Rainey WE. The Effects of Adrenocorticotrophic Hormone on Steroid Metabolomic Profiles in Human Adrenal Cells. *J Endocrinol.* 2011; 209(3): 327–335.
- 133 Vander AJ, Sherman JH, Luciano DS. *Human Physiology*. 8th edition. McGraw-Hill, Boston 2001.
- 134 Spät A, Hunyady L. Control of aldosterone secretion: a model for convergence in cellular signaling pathways. *Physiol Rev.* 2004;84(2):489-539.
- 135 Sewer MB, Li D, Dammer EB, Jagarlapudi S, Lucki N. Multiple Signaling Pathways Coordinate CYP17 Gene Expression in the Human Adrenal Cortex. *Acta Chim Slov.* 2008;55(1):53-57.
- 136 Miller WL. Steroid hormone synthesis in mitochondria. *Mol Cell Endocrinol.* 2013;379(1-2):62-73.

- 
- <sup>137</sup> Perogamvros I, Aarons L, Miller AG, Trainer PJ, Ray DW. Corticosteroid-binding globulin regulates cortisol pharmacokinetics. *Clin Endocrinol.* 2011;74(1):30-6.
- <sup>138</sup> Hammond GL, Smith CL, Underhill DA. Molecular studies of corticosteroid binding globulin structure, biosynthesis and function. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 1991;40(4-6):755-62.
- <sup>139</sup> Gambineri A, Fanelli F, Tomassoni F, Munarini A, Pagotto U, Andrew R, Walker BR, Pasquali R. Tissue-specific dysregulation of 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 in overweight/obese women with polycystic ovary syndrome compared with weight-matched controls. *Eur J Endocrinol.* 2014;171(1):47-57.
- <sup>140</sup> Boonen E, Vervenne H, Meersseman P, Andrew R, Mortier L, Iercq PE, Vanwijngaerden YM, Spriet I, Wouters PJ, Vander Perre S, Langouche L, Vanhorebeek I, Walker BR, Van den Berghe G. Reduced cortisol metabolism during critical illness. *N Engl J Med.* 2013;368(16):1477-88.
- <sup>141</sup> Stimson RH, Andersson J, Andrew R, Redhead DN, Karpe F, Hayes PC, Olsson T, Walker BR. Cortisol release from adipose tissue by 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 in humans. *Diabetes.* 2009;58(1):46-53.
- <sup>142</sup> Tomlinson JW, Walker EA, Bujalska IJ, Draper N, Lavery GG, Cooper MS, Hewison M, Stewart PM. 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase type 1: a tissue-specific regulator of glucocorticoid response. *Endocr Rev.* 2004;25(5):831-66.
- <sup>143</sup> Finken MJ, Andrews RC, Andrew R, Walker BR. Cortisol metabolism in healthy young adults: sexual dimorphism in activities of A-ring reductases, but not 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenases. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84(9):3316-21.
- <sup>144</sup> Draper N, Stewart PM. 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase and the pre-receptor regulation of corticosteroid hormone action. *J Endocrinol.* 2005;186(2):251-71.
- <sup>145</sup> Monder C, White PC. 11 $\beta$ -Hydroxysteroid dehydrogenase. *Vitam Horm.* 1993;47:187-271.

- 
- <sup>146</sup> Campino C, Carvajal CA, Cornejo J, San Martín B, Olivieri O, Guidi G, Faccini G, Pasini F, Sateler J, Baudrand R, Mosso L, Owen GI, Kalergis AM, Padilla O, Fardella CE. 11 $\beta$ -Hydroxysteroid dehydrogenase type-2 and type-1 (11 $\beta$ -HSD2 and 11 $\beta$ -HSD1) and 5 $\beta$ -reductase activities in the pathogenesis of essential hypertension. *Endocrine*. 2010;37(1):106-14.
- <sup>147</sup> Agarwal AK, Monder C, Eckstein B, White PC. Cloning and expression of rat cDNA encoding corticosteroid 11 beta-dehydrogenase. *J Biol Chem*. 1989;264(32):18939-43.
- <sup>148</sup> Agarwal AK, Mune T, Monder C, White PC. NAD(+)-dependent isoform of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase. Cloning and characterization of cDNA from sheep kidney. *J Biol Chem*. 1994;269(42):25959-62.
- <sup>149</sup> Albiston AL, Obeyesekere VR, Smith RE, Krozowski ZS. Cloning and tissue distribution of the human 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 enzyme. *Mol Cell Endocrinol*. 1994 ;105(2):R11-7.
- <sup>150</sup> Brown RW, Chapman KE, Kotelevtsev Y, Yau JL, Lindsay RS, Brett L, Leckie C, Murad P, Lyons V, Mullins JJ, Edwards CR, Seckl JR. Cloning and production of antisera to human placental 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2. *Biochem J*. 1996;313(3):1007-17.
- <sup>151</sup> Smith RE, Maguire JA, Stein-Oakley AN, Sasano H, Takahashi K, Fukushima K, Krozowski ZS. Localization of 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase type II in human epithelial tissues. *J Clin Endocrinol Metab*. 1996;81(9):3244-8.
- <sup>152</sup> Hirasawa G, Sasano H, Takahashi K, Fukushima K, Suzuki T, Hiwatashi N, Toyota T, Krozowski ZS, Nagura H. Colocalization of 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase type II and mineralocorticoid receptor in human epithelia. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997;82(11):3859-63.
- <sup>153</sup> Suzuki T, Sasano H, Suzuki S, Hirasawa G, Takeyama J, Muramatsu Y, Date F, Nagura H, Krozowski ZS. 11Beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 in human lung: possible regulator of mineralocorticoid action. *J Clin Endocrinol Metab*. 1998;83(11):4022-5.



- 
- <sup>154</sup> Pagé N, Warriar N, Govindan MV. 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase activity in human lung cells and transcription regulation by glucocorticoids. *Am J Physiol*. 1994;267(1):L464-74.
- <sup>155</sup> Stewart PM, Murry BA, Mason JI. Human kidney 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase is a high affinity nicotinamide adenine dinucleotide-dependent enzyme and differs from the cloned type I isoform. *J Clin Endocrinol Metab*. 1994;79(2):480-4.
- <sup>156</sup> Ricketts ML, Verhaeg JM, Bujalska I, Howie AJ, Rainey WE, Stewart PM. Immunohistochemical localization of type 1 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase in human tissues. *J Clin Endocrinol Metab*. 1998;83(4):1325-35.
- <sup>157</sup> Muraoka T, Hizuka N, Fukuda I, Ishikawa Y, Ichihara A. Mechanism of repression of 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 by growth hormone in 3T3-L1 adipocytes. *Endocr J*. 2014;61(7):675-82.
- <sup>158</sup> Jang C, Obeyesekere VR, Dilley RJ, Alford FP, Inder WJ. 11Beta hydroxysteroid dehydrogenase type 1 is expressed and is biologically active in human skeletal muscle. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2006;65(6):800-5.
- <sup>159</sup> Yau JL, Wheelan N, Noble J, Walker BR, Webster SP, Kenyon CJ, Ludwig M, Seckl JR. Intrahippocampal glucocorticoids generated by 11 $\beta$ -HSD1 affect memory in aged mice. *Neurobiol Aging*. 2014.
- <sup>160</sup> Anagnostis P, Katsiki N, Adamidou F, Athyros VG, Karagiannis A, Kita M, Mikhailidis DP. 11beta-Hydroxysteroid dehydrogenase type 1 inhibitors: novel agents for the treatment of metabolic syndrome and obesity-related disorders? *Metabolism*. 2013;62(1):21-33.
- <sup>161</sup> Wyrwoll CS, Holmes MC, Seckl JR. 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenases and the brain: from zero to hero, aade of progress. *Front Neuroendocrinol*. 2011;32(3):265-86.
- <sup>162</sup> Rajan V, Edwards CR, Seckl JR. 11 beta-Hydroxysteroid dehydrogenase in cultured hippocampal cells reactivates inert 11-dehydrocorticosterone, potentiating neurotoxicity. *J Neurosci*. 1996;16(1):65-70.
- <sup>163</sup> Schnackenberg CG, Costell MH, Krosky DJ, Cui J, Wu CW, Hong VS, Harpel MR, Willette RN, Yue TL. Chronic inhibition of 11  $\beta$  -

- 
- hydroxysteroid dehydrogenase type 1 activity decreases hypertension, insulin resistance, and hypertriglyceridemia in metabolic syndrome. *Biomed Res Int.* 2013;2013:427640.
- <sup>164</sup> Anil TM, Dandu A, Harsha K, Singh J, Shree N, Kumar VS, Lakshmi MN, Sunil V, Harish C, Balamurali GV, Naveen Kumar BS, Gopala AS, Pratibha S, Sadasivuni M, Anup MO, Moolemath Y, Venkataranganna MV, Jagannath MR, Somesh BP. A novel 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase type1 inhibitor CNX-010-49 improves hyperglycemia, lipid profile and reduces body weight in diet induced obese C57B6/J mice with a potential to provide cardio protective benefits. *BMC Pharmacol Toxicol.* 2014;15:43.
- <sup>165</sup> Hu GX, Lin H, Lian QQ, Zhou SH, Guo J, Zhou HY, Chu Y, Ge RS. Curcumin as a potent and selective inhibitor of 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase 1: improving lipid profiles in high-fat-diet-treated rats. *PLoS One.* 2013;8(3).
- <sup>166</sup> Ahmed A, Rabbitt E, Brady T, Brown C, Guest P, Bujalska IJ, Doig C, Newsome PN, Hubscher S, Elias E, Adams DH, Tomlinson JW, Stewart PM. A switch in hepatic cortisol metabolism across the spectrum of non alcoholic fatty liver disease. *PLoS One.* 2012;7(2).
- <sup>167</sup> Wudy SA, Hartmann MF, Remer T. Sexual dimorphism in cortisol secretion starts after age 10 in healthy children: urinary cortisol metabolite excretion rates during growth. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2007;293(4):E970-6.
- <sup>168</sup> Dejean C, Richard D. Mechanisms of action of glucocorticoids. *Rev Med Interne.* 2013;34(5):264-8.
- <sup>169</sup> Kirschke E, Goswami D, Southworth D, Griffin PR, Agard DA. Glucocorticoid receptor function regulated by coordinated action of the Hsp90 and Hsp70 chaperone cycles. *Cell.* 2014;157(7):1685-97.
- <sup>170</sup> Piroli GG, Grillo CA, Reznikov LR, Adams S, McEwen BS, Charron MJ, Reagan LP. Corticosterone impairs insulin-stimulated translocation of GLUT4 in the rat hippocampus. *Neuroendocrinology.* 2007;85(2):71-80.
- <sup>171</sup> van Stegeren AH. Imaging stress effects on memory: a review of neuroimaging studies. *Can J Psychiatry.* 2009;54(1):16-27.

- 
- <sup>172</sup> Nussey S, Whitehead S. *Endocrinology: an integrated approach*. BIOS Scientific Publishers. Oxford. 2001.
- <sup>173</sup> Adinoff B, Best SE, Ye W, Williams MJ, Iranmenesh A. Adrenocortical and pituitary glucocorticoid feedback in abstinent alcohol-dependent women. *Alcohol Clin Exp Res*. 2010;34(5):915-24.
- <sup>174</sup> Sugawara T, Sakuragi N, Minakami H. CREM confers cAMP responsiveness in human steroidogenic acute regulatory protein expression in NCI-H295R cells rather than SF-1/Ad4BP. *J Endocrinol*. 2006;191(1):327-37.
- <sup>175</sup> Chan S, Debono M. Replication of cortisol circadian rhythm: new advances in hydrocortisone replacement therapy. *Ther Adv Endocrinol Metab*. 2010;1(3):129-38.
- <sup>176</sup> Kudielka BM, Gierens A, Hellhammer DH, Wüst S, Schlotz W. Salivary cortisol in ambulatory assessment--some dos, some don'ts, and some open questions. *Psychosom Med*. 2012;74(4):418-31.
- <sup>177</sup> Van Cauter E. Diurnal and ultradian rhythms in human endocrine function: a minireview. *Horm Res*. 1990;34(2):45-53.
- <sup>178</sup> Fries E, Dettenborn L, Kirschbaum C. The cortisol awakening response (CAR): facts and future directions. *Int J Psychophysiol*. 2009;72(1):67-73.
- <sup>179</sup> King SL, Hegadoren KM. Stress hormones: how do they measure up? *Biol Res Nurs*. 2002;4(2):92-103.
- <sup>180</sup> Debono M, Ghobadi C, Rostami-Hodjegan A, Huatan H, Campbell MJ, Newell-Price J, Darzy K, Merke DP, Arlt W, Ross RJ. Modified-release hydrocortisone to provide circadian cortisol profiles. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009;94(5):1548-54.
- <sup>181</sup> Watamura SE, Donzella B, Kertes DA, Gunnar MR. Developmental changes in baseline cortisol activity in early childhood: relations with napping and effortful control. *Dev Psychobiol*. 2004;45(3):125-33.
- <sup>182</sup> Larson MC, White BP, Cochran A, Donzella B, Gunnar M. Dampening of the cortisol response to handling at 3 months in human infants and its relation to sleep, circadian cortisol activity, and behavioral distress. *Dev Psychobiol*. 1998;33(4):327-37.

- 
- 183 Gröschl M, Rauh M, Dörr HG. Circadian rhythm of salivary cortisol, 17alpha-hydroxyprogesterone, and progesterone in healthy children. *Clin Chem*. 2003;49(10):1688-91.
- 184 Faglia G, Beck-Peccoz P. *Malattie del sistema endocrino e del metabolismo*. Quarta edizione. McGraw-Hill, Milano 2006.
- 185 Sito web: <http://www.nlm.nih.gov>.
- 186 Vining RF, McGinley RA. The measurement of hormones in saliva: possibilities and pitfalls. *J Steroid Biochem*. 1987;27(1-3):81-94.
- 187 Hellhammer DH, Wüst S, Kudielka BM. Salivary cortisol as a biomarker in stress research. *Psychoneuroendocrinology*. 2009;34(2):163-71.
- 188 Törnhaage CJ. Salivary cortisol for assessment of hypothalamic-pituitary-adrenal axis function. *Neuroimmunomodulation*. 2009;16(5):284-9.
- 189 Gröschl M. Current status of salivary hormone analysis. *Clin Chem*. 2008;54(11):1759-69.
- 190 Kiess W, Pfaeffle R. Steroid analysis in saliva: a noninvasive tool for pediatric research and clinical practice. *J Pediatr (Rio J)*. 2007;83(2):97-9.
- 191 Aguilar Cordero MJ, Sánchez López AM, Mur Villar N, García I, Rodríguez López MA, Ortegón Piñero A, Cortés Castell E. Salivary cortisol as an indicator of physiological stress in children and adults; a systematic review. *Nutr Hosp*. 2014;29(5):960-8.
- 192 Vreeburg SA, Kruijtzter BP, van Pelt J, van Dyck R, DeRijk RH, Hoogendijk WJ, Smit JH, Zitman FG, Penninx BW. Associations between sociodemographic, sampling and health factors and various salivary cortisol indicators in a large sample without psychopathology. *Psychoneuroendocrinology*. 2009;34(8):1109-20.
- 193 Martin CG, Bruce J, Fisher PA. Racial and ethnic differences in diurnal cortisol rhythms in preadolescents: the role of parental psychosocial risk and monitoring. *Horm Behav*. 2012;61(5):661-8.
- 194 Skinner ML, Shirtcliff EA, Haggerty KP, Coe CL, Catalano RF. Allostasis model facilitates understanding race differences in the diurnal cortisol rhythm. *Dev Psychopathol*. 2011;23(4):1167-86.

- 
- <sup>195</sup> Törnåge CJ. Reference values for morning salivary cortisol concentrations in healthy school-aged children. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2002;15(2):197-204.
- <sup>196</sup> Oskis A, Loveday C, Hucklebridge F, Thorn L, Clow A. Diurnal patterns of salivary cortisol across the adolescent period in healthy females. *Psychoneuroendocrinology.* 2009;34(3):307-16.
- <sup>197</sup> Michels N, Sioen I, Braet C, Huybrechts I, Vanaelst B, Wolters M, De Henauw S. Relation between salivary cortisol as stress biomarker and dietary pattern in children. *Psychoneuroendocrinology.* 2013;38(9):1512-20.
- <sup>198</sup> Rosmalen JG, Oldehinkel AJ, Ormel J, de Winter AF, Buitelaar JK, Verhulst FC. Determinants of salivary cortisol levels in 10-12 year old children; a population-based study of individual differences. *Psychoneuroendocrinology.* 2005;30(5):483-95.
- <sup>199</sup> Van Hulle CA, Shirtcliff EA, Lemery-Chalfant K, Goldsmith HH. Genetic and environmental influences on individual differences in cortisol level and circadian rhythm in middle childhood. *Horm Behav.* 2012;62(1):36-42.
- <sup>200</sup> Bartels M, de Geus EJ, Kirschbaum C, Sluyter F, Boomsma DI. Heritability of daytime cortisol levels in children. *Behav Genet.* 2003;33(4):421-33.
- <sup>201</sup> Maguire AM, Cowell CT. Salivary cortisol to assess the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in healthy children under 3 years old. *J Pediatr (Rio J).* 2007;83(4):383-4;
- <sup>202</sup> Ray JA, Meikle AW. Cortisol-cortisone shuttle: a functional indicator of 11 $\beta$ -hsd activity. *Cortisol.* Nova Science Publishers, Inc. 2012.
- <sup>203</sup> Römer B, Lewicka S, Kopf D, Lederbogen F, Hamann B, Gilles M, Schilling C, Onken V, Frankhauser P, Deuschle M. Cortisol metabolism in depressed patients and healthy controls. *Neuroendocrinology.* 2009;90(3):301-6.
- <sup>204</sup> Deuschle M, Lippa P, Gilles M, Hamann B, Heuser I. Antidepressant treatment and dehydroepiandrosterone sulfate: different effects of amitriptyline and paroxetine. *Neuropsychobiology.* 2004;50:252–256.
- <sup>205</sup> Ghaemmaghami P, Dainese SM, La Marca R, Zimmermann R, Ehlert U. The association between the acute psychobiological stress response in

- 
- second trimester pregnant women, amniotic fluid glucocorticoids, and neonatal birth outcome. *Dev Psychobiol.* 2014;56(4):734-47.
- 206 Vogeser M, Groetzner J, Küpper C, Briegel J. The serum cortisol:cortisone ratio in the postoperative acute-phase response. *Horm Res.* 2003;59(6):293-6.
- 207 La Marca-Ghaemmaghami P, La Marca R, Dainese SM, Haller M, Zimmermann R, Ehlert U. The association between perceived emotional support, maternal mood, salivary cortisol, salivary cortisone, and the ratio between the two compounds in response to acute stress in second trimester pregnant women. *J Psychosom Res.* 2013;75(4):314-20.
- 208 Herman JP. Neural pathways of stress integration: relevance to alcohol abuse. *Alcohol Res.* 2012;34(4):441-7.
- 209 Ulrich-Lai YM, Herman JP. Neural regulation of endocrine and autonomic stress responses. *Nat Rev Neurosci.* 2009;10(6):397-409.
- 210 Herman JP, Figueiredo H, Mueller NK, Ulrich-Lai Y, Ostrander MM, Choi DC, Cullinan WE. Central mechanisms of stress integration: hierarchical circuitry controlling hypothalamo-pituitary-adrenocortical responsiveness. *Front Neuroendocrinol.* 2003;24(3):151-80.
- 211 Feldman S, Conforti N, Itzik A, Weidenfeld J. Differential effect of amygdaloid lesions on CRF-41, ACTH and corticosterone responses following neural stimuli. *Brain Res.* 1994;658(1-2):21-6.
- 212 Dayas CV, Buller KM, Day TA. Neuroendocrine responses to an emotional stressor: evidence for involvement of the medial but not the central amygdala. *Eur J Neurosci.* 1999;11(7):2312-22.
- 213 Herman JP, Ostrander MM, Mueller NK, Figueiredo H. Limbic system mechanisms of stress regulation: hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2005;29(8):1201-13.
- 214 Buchanan TW, Kern S, Allen JS, Tranel D, Kirschbaum C. Circadian regulation of cortisol after hippocampal damage in humans. *Biol Psychiatry.* 2004;56(9):651-6.

- 
- <sup>215</sup> Pruessner M, Pruessner JC, Hellhammer DH, Bruce Pike G, Lupien SJ. The associations among hippocampal volume, cortisol reactivity, and memory performance in healthy young men. *Psychiatry Res.* 2007;155(1):1-10.
- <sup>216</sup> Jones KR, Myers B, Herman JP. Stimulation of the prelimbic cortex differentially modulates neuroendocrine responses to psychogenic and systemic stressors. *Physiol Behav.* 2011;104(2):266-71.
- <sup>217</sup> Tavares RF, Corrêa FM, Resstel LB. Opposite role of infralimbic and prelimbic cortex in the tachycardiac response evoked by acute restraint stress in rats. *J Neurosci Res.* 2009;87(11):2601-7.
- <sup>218</sup> Radley JJ, Arias CM, Sawchenko PE. Regional differentiation of the medial prefrontal cortex in regulating adaptive responses to acute emotional stress. *J Neurosci.* 2006;26(50):12967-76.
- <sup>219</sup> Akana SF, Chu A, Soriano L, Dallman MF. Corticosterone exerts site specific and state-dependent effects in prefrontal cortex and amygdala on regulation of adrenocorticotrophic hormone, insulin and fat depots. *J Neuroendocrinol.* 2001;13(7):625-37.
- <sup>220</sup> Choi J, Jeong B, Rohan ML, Polcari AM, Teicher MH. Preliminary evidence for white matter tract abnormalities in young adults exposed to parental verbal abuse. *Biol Psychiatry.* 2009;65(3):227-34.
- <sup>221</sup> Vertes RP. Differential projections of the infralimbic and prelimbic cortex in the rat. *Synapse.* 2004;51(1):32-58.
- <sup>222</sup> Choi DC, Evanson NK, Furay AR, Ulrich-Lai YM, Ostrander MM, Herman JP. The anteroventral bed nucleus of the stria terminalis differentially regulates hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis responses to acute and chronic stress. *Endocrinology.* 2008;149(2):818-26.
- <sup>223</sup> Neill JJ. "Diffusion Imaging Concepts for Clinicians". *Journal of Magnetic Resonance Imaging.* 2008;27:1-7.
- <sup>224</sup> Bihan DL, Mangin JF, Poupon C, Clark CA, Pappata S, Molko N, Chabriat H. "Diffusion Tensor Imaging: Concepts and Applications". *Journal of Magnetic Resonance Imaging.* 2001;13:534-546.

- 
- 225 Catani M, Howard RJ, Pajevic S, Jones DK. “Virtual in Vivo Interactive Dissection of White Matter Fasciculi in the Human Brain”. *Neuroimage*. 2002;17:77-94.
- 226 Fortin D, Aubin-Lemay C, Borè A, Girard G, Houde JC, Whittingstall K, Descoteaux M. “Tractography in the study of the Human Brain: A Neurosurgical Perspective”. *The Canadian Journal of Neurological Sciences*. 2012;39:747-756.
- 227 Chanraud S, Zahr, Sullivan EV, Pfefferbaum A. “MRI Diffusion Tensor Imaging: A Window into White Matter Integrity of the Working Brain”. *Neuropsychol Rev*. 2010;20(2):209-225.
- 228 JiHeon H, SeongHo K, Sang HA, Jang SH. “The anatomical location of the arcuate fasciculus in the human brain: A diffusion tensor tractography study”. *Brain Research Bulletin*. 2009;80:52–55.
- 229 Zhang Y, Wan SH, Wu GJ, Lin-Zahng X. “Magnetic Resonance Diffusion Tensor Imaging And Diffusion Tensor Tractography Of Human Visual Pathway”. *Int J Ophthalmol*. 2012;5(4):452-458.
- 230 Gilbert R, Widom CS, Browne K, Fergusson D, Webb E, Janson S. Burden and consequences of child maltreatment in high-income countries. *Lancet*. 2009;373(9657):68-81.
- 231 De Graaf-Peters VB, Hadders-Algra M. Ontogeny of the human central nervous system: what is happening when? *Early Hum Dev*. 2006;82(4):257-66.
- 232 Ottaviani E, Franceschi C. The neuroimmunology of stress from invertebrates to man. *Prog Neurobiol*. 1996;48(4-5):421-40.
- 233 Schmidt NA. Salivary cortisol testing in children. *Issues Compr Pediatr Nurs*. 1998;20(3):183-90.
- 234 González-Cabrera J, Fernández-Prada M, Iribar-Ibabe C, Peinado JM. Acute and chronic stress increase salivary cortisol: a study in the real-life setting of a national examination undertaken by medical graduates. *Stress*. 2014;17(2):149-56.



- 
- <sup>235</sup> Kirschbaum C. · Pirke K.-M. · Hellhammer D.H. The ‘Trier Social Stress Test’ – A Tool for Investigating Psychobiological Stress Responses in a *Laboratory Setting. Neuropsychobiology.* 1993;28:76–81.
- <sup>236</sup> Yan YX, Dong J, Liu YQ, Zhang J, Song MS, He Y, Wang W. Association of suboptimal health status with psychosocial stress, plasma cortisol and mRNA expression of glucocorticoid receptor  $\alpha/\beta$  in lymphocyte. *Stress.* 2015;23:1-6.
- <sup>237</sup> Steinisch M, Yusuf R, Li J, Stalder T, Bosch JA, Rahman O, Strümpell C, Ashraf H, Fischer JE, Loerbroks A. Work stress and hair cortisol levels among workers in a Bangladeshi ready-made garment factory - Results from a cross-sectional study. *Psychoneuroendocrinology.* 2014;50:20-7.
- <sup>238</sup> Eisenach JH, Sprung J, Clark MM, Shanafelt TD, Johnson BD, Kruse TN, Chantigian DP, Carter JR, Long TR. The psychological and physiological effects of acute occupational stress in new anesthesiology residents: a pilot trial. *Anesthesiology.* 2014;121(4):878-93.
- <sup>239</sup> Serrano MA, Moya-Albiol L, Salvador A. Endocrine and mood responses to two working days in female teachers. *Span J Psychol.* 2014;17:E25.
- <sup>240</sup> Bottaccioli F, Carosella A, Cardone R, Mambelli M, Cemin M, D'Errico MM, Ponzio E, Bottaccioli AG, Minelli A. Brief training of psychoneuroendocrinoimmunology-based meditation (PNEIMED) reduces stress symptom ratings and improves control on salivary cortisol secretion under basal and stimulated conditions. *Explore (NY).* 2014;10(3):170-9.
- <sup>241</sup> Sjörs A, Ljung T, Jonsdottir IH. Diurnal salivary cortisol in relation to perceived stress at home and at work in healthy men and women. *Biol Psychol.* 2014;99:193-7.
- <sup>242</sup> van den Bos R, Taris R, Scheppink B, de Haan L, Verster JC. Salivary cortisol and alpha-amylase levels during an assessment procedure correlate differently with risk-taking measures in male and female police recruits. *Front Behav Neurosci.* 2014;16;7:219.
- <sup>243</sup> Michels N, Sioen I, Huybrechts I, Bammann K, Vanaelst B, De Vriendt T, Iacoviello L, Konstabel K, Ahrens W, De Henauw S. Negative life events, emotions and psychological difficulties as determinants of salivary cortisol

- 
- in Belgian primary school children. *Psychoneuroendocrinology*. 2012;37(9):1506-15.
- 244 Aguilar M J. *Tratado de enfermería del niño y del adolescente. Cuidados Pediátricos*. Segunda Edición. Elsevier, España 2012.
- 245 Campbell AM, Hibbard R. More than words: the emotional maltreatment of children. *Pediatr Clin North Am*. 2014;61(5):959-70.
- 246 Dvir Y, Ford JD, Hill M, Frazier JA. Childhood maltreatment, emotional dysregulation, and psychiatric comorbidities. *Harv Rev Psychiatry*. 2014;22(3):149-61.
- 247 Kocsis-Bogár K, Perczel Forintos D. The relevance of traumatic life events in schizophrenia spectrum disorders. *Ideggyogy Sz*. 2014;30;67(9-10):301-8.
- 248 Choi KW, Sikkema KJ, Velloza J, Marais A, Jose C, Stein DJ, Watt MH, Joska JA. Maladaptive coping mediates the influence of childhood trauma on depression and PTSD among pregnant women in South Africa. *Arch Womens Ment Health*. 2015;13.
- 249 Nicolson NA, Davis MC, Kruszewski D, Zautra AJ. Childhood maltreatment and diurnal cortisol patterns in women with chronic pain. *Psychosom Med*. 2010;72(5):471-80.
- 250 Elzinga BM, Roelofs K, Tollenaar MS, Bakvis P, van Pelt J, Spinhoven P. Diminished cortisol responses to psychosocial stress associated with lifetime adverse events a study among healthy young subjects. *Psychoneuroendocrinology*. 2008;33(2):227-37.
- 251 Carpenter LL, Shattuck TT, Tyrka AR, Geraciotti TD, Price LH. Effect of childhood physical abuse on cortisol stress response. *Psychopharmacology*. 2011;214(1):367-75.
- 252 Gunnar MR, Morison SJ, Chisholm K, Schuder M. Salivary cortisol levels in children adopted from romanian orphanages. *Dev Psychopathol*. 2001;13(3):611-28.
- 253 Ouellet-Morin I, Odgers CL, Danese A, Bowes L, Shakoor S, Papadopoulos AS, Caspi A, Moffitt TE, Arseneault L. Blunted cortisol responses to stress signal social and behavioral problems among maltreated/bullied 12-year-old children. *Biol Psychiatry*. 2011;70(11):1016-23.

- 
- 254 Powell DJ, Lioffi C, Moss-Morris R, Schlotz W. Unstimulated cortisol secretory activity in everyday life and its relationship with fatigue and chronic fatigue syndrome: a systematic review and subset meta-analysis. *Psychoneuroendocrinology*. 2013;38(11):2405-22.
- 255 Hall DL, Lattie EG, Antoni MH, Fletcher MA, Czaja S, Perdomo D, Klimas NG. Stress management skills, cortisol awakening response, and post-exertional malaise in Chronic Fatigue Syndrome. *Psychoneuroendocrinology*. 2014;49C:26-31.
- 256 Flory JD, Yehuda R, Grossman R, New AS, Mitropoulou V, Siever LJ. Childhood trauma and basal cortisol in people with personality disorders. *Compr Psychiatry*. 2009;50(1):34-7.
- 257 van der Vegt EJ, van der Ende J, Kirschbaum C, Verhulst FC, Tiemeier H. Early neglect and abuse predict diurnal cortisol patterns in adults A study of international adoptees. *Psychoneuroendocrinology*. 2009;34(5):660-9.
- 258 van Andel HW, Jansen LM, Grietens H, Knorth EJ, van der Gaag RJ. Salivary cortisol: a possible biomarker in evaluating stress and effects of interventions in young foster children? *Eur Child Adolesc Psychiatry*. 2014;23(1):3-12.
- 259 Gunnar MR, Vazquez DM. Low cortisol and a flattening of expected daytime rhythm: potential indices of risk in human development. *Dev Psychopathol*. 2001;13(3):515-38.
- 260 Bruce J, Fisher PA, Pears KC, Levine S. Morning cortisol Levels in preschool-aged foster children: differential effects of maltreatment type. *Dev Psychobiol*. 2009;51(1):14-23.
- 261 Dozier M, Manni M, Gordon MK, Peloso E, Gunnar MR, Stovall-McClough KC, Eldreth D, Levine S. Foster children's diurnal production of cortisol: an exploratory study. *Child Maltreat*. 2006;11(2):189-97.
- 262 Bernard K, Butzin-Dozier Z, Rittenhouse J, Dozier M. Cortisol production patterns in young children living with birth parents vs children placed in foster care following involvement of Child Protective Services. *Arch Pediatr Adolesc Med*. 2010;164(5):438-43.

- 
- 263 Linares LO, Stovall-McClough KC, Li M, Morin N, Silva R, Albert A, Cloitre M. Salivary cortisol in foster children: a pilot study. *Child Abuse Negl.* 2008;32(6):665-70.
- 264 Wolf JM, Nicholls E, Chen E. Chronic stress, salivary cortisol, and alpha-amylase in children with asthma and healthy children. *Biol Psychol.* 2008;78(1):20-8.
- 265 Moss HB, Vanyukov M, Yao JK, Kirillova GP. Salivary cortisol responses in prepubertal boys: the effects of parental substance abuse and association with drug use behavior during adolescence. *Biol Psychiatry.* 1999;45(10):1293-9.
- 266 Miller GE, Chen E, Zhou ES. If it goes up, must it come down? Chronic stress and the hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis in humans. *Psychol Bull.* 2007;133(1):25-45.
- 267 Bruce J, Davis EP, Gunnar MR. Individual differences in children's cortisol response to the beginning of a new school year. *Psychoneuroendocrinology.* 2002;27(6):635-50.
- 268 Gunnar MR, Brodersen L, Krueger K, Rigatuso J. Dampening of adrenocortical responses during infancy: normative changes and individual differences. *Child Dev.* 1996;67(3):877-89.
- 269 Chen E, Craske MG, Katz ER, Schwartz E, Zeltzer LK. Pain-sensitive temperament: does it predict procedural distress and response to psychological treatment among children with cancer? *J Pediatr Psychol.* 2000;25(4):269-78.
- 270 Davis EP, Donzella B, Krueger WK, Gunnar MR. The start of a new school year: individual differences in salivary cortisol response in relation to child temperament. *Dev Psychobiol.* 1999 ;35(3):188-96.
- 271 Dettling AC, Gunnar MR, Donzella B. Cortisol levels of young children in full-day childcare centers: relations with age and temperament. *Psychoneuroendocrinology.* 1999;24(5):519-36.
- 272 Kiess W, Meidert A, Dressendörfer RA, Schriever K, Kessler U, König A, Schwarz HP, Strasburger CJ. Salivary cortisol levels throughout childhood

- 
- and adolescence: relation with age, pubertal stage, and weight. *Pediatr Res.* 1995;37(4 Pt 1):502-6.
- <sup>273</sup> Kudielka BM, Buske-Kirschbaum A, Hellhammer DH, Kirschbaum C. HPA axis responses to laboratory psychosocial stress in healthy elderly adults, younger adults, and children: impact of age and gender. *Psychoneuroendocrinology.* 2004;29(1):83-98.
- <sup>274</sup> Chrousos GP. The hypothalamic-pituitary-adrenal axis and immunemediated inflammation. *N. Eng. J. Med.* 1995;332:1351-62.
- <sup>275</sup> Chrousos GP. The stress response and immune function: clinical implications; the 1999 Novera H. spector lecture. *Ann. NY Acad Sci.* 2000;917:38-67.
- <sup>276</sup> Elnkov IJ et al. Low versus baseline epinephrine output shapes opposite innate cytokine profiles: presence of Lewis- and Fischer-like neurohormonal-immune phenotypes in humans. *J. Immunol.* 2008;181:1737-45.
- <sup>277</sup> Charmandari E, Tsigos C, Chrousos GP. Neuroendocrinology of stress. *Ann. Rev. Physiol.* 2005; 67:259-84.
- <sup>278</sup> Chrousos GP, Kino T. Glucocorticoid action networks and complex psychiatric and/or somatic disorders. *Stress.* 2007;10:213-9.
- <sup>279</sup> Machado A, Herrera AJ, de Pablos RM, Espinosa-Oliva AM, Sarmiento M, Ayala A, Venero JL, Santiago M, Villarán RF, Delgado-Cortés MJ, Argüelles S, Cano J. Chronic stress as a risk factor for Alzheimer's disease. *Rev Neurosci.* 2014.
- <sup>280</sup> Cohen S, Janicki-Deverts D, Miller GE. Psychological stress and disease. *JAMA.* 2007 10;298(14):1685-7.
- <sup>281</sup> Cole SW. Social regulation of leukocyte homeostasis: the role of glucocorticoid sensitivity. *Brain Behav Immun.* 2008;22(7):1049-55.
- <sup>282</sup> Marques AH, Silverman MN, Sternberg EM. Glucocorticoid dysregulations and their clinical correlates. From receptors to therapeutics. *Ann N Y Acad Sci.* 2009;1179:1-18.
- <sup>283</sup> Miller GE, Cohen S, Ritchey AK. Chronic psychological stress and the regulation of pro-inflammatory cytokines: a glucocorticoid-resistance model. *Health Psychol.* 2002;21(6):531-41.

- 
- 284 Miller GE, Chen E, Sze J, Marin T, Arevalo JM, Doll R, Ma R, Cole SW. A functional genomic fingerprint of chronic stress in humans: blunted glucocorticoid and increased NF-kappaB signaling. *Biol Psychiatry*. 2008;64(4):266-72.
- 285 Nathan C. Points of control in inflammation. *Nature*. 2002;420(6917):846-52.
- 286 Tian R, Hou G, Li D, Yuan TF. A possible change process of inflammatory cytokines in the prolonged chronic stress and its ultimate implications for health. *ScientificWorldJournal*. 2014;2014:780616.
- 287 Winther B, Gwaltney JM Jr, Mygind N, Hendley JO. Viral-induced rhinitis. *Am J Rhinol*. 1998;12(1):17-20.
- 288 Cohen S, Tyrrell DA, Smith AP. Psychological stress and susceptibility to the common cold. *N Engl J Med*. 1991;325(9):606-12.
- 289 Cohen S, Frank E, Doyle WJ, Skoner DP, Rabin BS, Gwaltney JM Jr. Types of stressors that increase susceptibility to the common cold in healthy adults. *Health Psychol*. 1998;17(3):214-23.
- 290 Cohen S, Doyle WJ, Skoner DP. Psychological stress, cytokine production, and severity of upper respiratory illness. *Psychosom Med*. 1999;61(2):175-80.
- 291 Iwasaki H. Reversible alterations in cardiac morphology and functions in a patient with Cushing's syndrome. *Endocrinol Diabetes Metab Case Rep*. 2014;2014:140038.
- 292 Boscaro M, Arnaldi G. Approach to the patient with possible Cushing's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009;94(9):3121-31.
- 293 Sowell ER, Peterson BS, Thompson PM, Welcome SE, Henkenius AL, Toga AW. Mapping cortical change across the human life span. *Nat Neurosci*. 2003;6(3):309-15.
- 294 Teicher MH, Andersen SL, Polcari A, Anderson CM, Navalta CP, Kim DM. The neurobiological consequences of early stress and childhood maltreatment. *Neurosci Biobehav Rev*. 2003;27(1-2):33-44.

- 
- 295 Rinne-Albers MA, van der Wee NJ, Lamers-Winkelmann F, Vermeiren RR. Neuroimaging in children, adolescents and young adults with psychological trauma. *Eur Child Adolesc Psychiatry*. 2013;22(12):745-55.
- 296 Giedd JN, Rumsey JM, Castellanos FX, Rajapakse JC, Kaysen D, Vaituzis AC, Vauss YC, Hamburger SD, Rapoport JL. A quantitative MRI study of the corpus callosum in children and adolescents. *Brain Res Dev Brain Res*. 1996;91(2):274-80.
- 297 Lanius RA, Vermetten E, Pain C. *L'impatto del trauma infantile sulla salute e sulla malattia. L'epidemia nascosta*. Giovanni Fioriti Editore, Roma 2010.
- 298 Huang WL et al. Repeated prenatal corticosteroid administration delays myelination of the corpus callosum in foetal sheep. *Int J Dev Neurosci* 2001;19:415-25.
- 299 Sanchez M, Hearn EF, Do D, Rilling JK, Herndon JG. Differential rearing affects corpus callosum size and cognitive function of rhesus monkeys. *Brain research*. 1998;812(1), 38-49.
- 300 De Bellis MD, Keshavan MS, Clark DB, Casey BJ, Giedd JN, Boring AM, Frustaci K, Ryan ND. A.E. Bennett Research Award. Developmental traumatology. Part II: Brain development. *Biol Psychiatry*. 1999;45(10):1271-84.
- 301 De Bellis MD, Keshavan MS, Shifflett H, Iyengar S, Beers SR, Hall J, Moritz G. Brain structures in pediatric maltreatment-related posttraumatic stress disorder: a sociodemographically matched study. *Biol Psychiatry*. 2002 1;52(11):1066-78.
- 302 De Bellis MD, Keshavan MS. Sex differences in brain maturation in maltreatment-related pediatric posttraumatic stress disorder. *Neurosci Biobehav Rev*. 2003;27(1-2):103-17.
- 303 Teicher MH, Dumont NL, Ito Y, Vaituzis C, Giedd JN, Andersen SL. Childhood neglect is associated with reduced corpus callosum area. *Biol Psychiatry*. 2004;56(2):80-5.
- 304 Kitayama N, Brummer M, Hertz L, Quinn S, Kim Y, Bremner JD. Morphologic alterations in the corpus callosum in abuse-related

- 
- posttraumatic stress disorder: a preliminary study. *J Nerv Ment Dis.* 2007;195(12):1027-9.
- <sup>305</sup> Andersen SL, Tomada A, Vincow ES, Valente E, Polcari A, Teicher MH. Preliminary evidence for sensitive periods in the effect of childhood sexual abuse on regional brain development. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci.* 2008;20(3):292-301.
- <sup>306</sup> Karl A, Schaefer M, Malta LS, Dörfel D, Rohleder N, Werner A. A meta-analysis of structural brain abnormalities in PTSD. *Neurosci Biobehav Rev.* 2006;30(7):1004-31.
- <sup>307</sup> Chao L, Weiner M, Neylan T. Regional cerebral volumes in veterans with current versus remitted posttraumatic stress disorder. *Psychiatry Res.* 2013;213(3):193-201.
- <sup>308</sup> Ahmed F, Ras J, Seedat S. Volumetric structural magnetic resonance imaging findings in pediatric posttraumatic stress disorder and obsessive compulsive disorder: a systematic review. *Front Psychol.* 2012;3:568.
- <sup>309</sup> Li H, Li W, Wei D, Chen Q, Jackson T, Zhang Q, Qiu J. Examining brain structures associated with perceived stress in a large sample of young adults via voxel-based morphometry. *Neuroimage.* 2014;15(92):1-7.
- <sup>310</sup> Schiffer F, Teicher MH, Papanicolaou AC. Evoked potential evidence for right brain activity during the recall of traumatic memories. *The Journal of neuropsychiatry and clinical neurosciences.* 1995.
- <sup>311</sup> Hart H, Rubia K. Neuroimaging of child abuse: a critical review. *Front Hum Neurosci.* 2012;6:52.
- <sup>312</sup> Panzer A. The neuroendocrinological sequelae of stress during brain development: the impact of child abuse and neglect. *Afr J Psychiatry.* 2008;11(1):29-34.
- <sup>313</sup> Christie BR, Cameron HA. Neurogenesis in the adult hippocampus. *Hippocampus.* 2006;16(3):199-207.
- <sup>314</sup> Balu DT, Lucki I. Adult hippocampal neurogenesis: regulation, functional implications, and contribution to disease pathology. *Neurosci Biobehav Rev.* 2009;33(3):232-52.



- 
- <sup>315</sup> Paizanis E, Kelaï S, Renoir T, Hamon M, Lanfumey L. Life-long hippocampal neurogenesis: environmental, pharmacological and neurochemical modulations. *Neurochem Res.* 2007;32(10):1762-71.
- <sup>316</sup> Kim JI, Lee JW, Lee YA, Lee DH, Han NS, Choi YK, Hwang BR, Kim HJ, Han JS. Sexual activity counteracts the suppressive effects of chronic stress on adult hippocampal neurogenesis and recognition memory. *Brain Res.* 2013;1538:26-40.
- <sup>317</sup> Gould E, Tanapat P. Stress and hippocampal neurogenesis. *Biol Psychiatry.* 1999;46(11):1472-9.
- <sup>318</sup> Zhao C, Deng W, Gage FH. Mechanisms and functional implications of adult neurogenesis. *Cell.* 2008;132(4):645-60.
- <sup>319</sup> Swaab DF, Bao AM, Lucassen PJ. The stress system in the human brain in depression and neurodegeneration. *Ageing Research Review.* 2005;4(2):141-94.
- <sup>320</sup> Sapolsky RM, Uno H, Rebert CS, Finch CE. Hippocampal damage associated with prolonged glucocorticoid exposure in primates. *J Neurosci.* 1990;10(9):2897-902.
- <sup>321</sup> Andersen SL, Teicher MH. Delayed effects of early stress on hippocampal development. *Neuropsychopharmacology.* 2004;29(11):1988-93.
- <sup>322</sup> Woon FL, Sood S, Hedges DW. Hippocampal volume deficits associated with exposure to psychological trauma and posttraumatic stress disorder in adults: a meta-analysis. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2010;34(7):1181-8.
- <sup>323</sup> Morey RA, Gold AL, LaBar KS, Beall SK, Brown VM, Haswell CC, Nasser JD, Wagner HR, McCarthy G; Mid-Atlantic MIRECC Workgroup. Amygdala volume changes in posttraumatic stress disorder in a large case-controlled veterans group. *Arch Gen Psychiatry.* 2012;69(11):1169-78.
- <sup>324</sup> van der Werff SJ, Pannekoek JN, Stein DJ, van der Wee NJ. Neuroimaging of resilience to stress: current state of affairs. *Hum Psychopharmacol.* 2013;28(5):529-32.

- 
- 325 Wignall EL, Dickson JM, Vaughan P, Farrow TF, Wilkinson ID, Hunter MD, Woodruff PW. Smaller hippocampal volume in patients with recent-onset posttraumatic stress disorder. *Biol Psychiatry*. 2004;56(11):832-6.
- 326 McGowan PO, Sasaki A, D'Alessio AC, Dymov S, Labonté B, Szyf M, Turecki G, Meaney MJ. Epigenetic regulation of the glucocorticoid receptor in human brain associates with childhood abuse. *Nat Neurosci*. 2009;12(3):342-8.
- 327 Mohlenhoff BS, Chao LL, Buckley ST, Weiner MW, Neylan TC. Are hippocampal size differences in posttraumatic stress disorder mediated by sleep pathology? *Alzheimers Dement*. 2014;10(3 Suppl):S146-54
- 328 Gilbertson MW, Shenton ME, Ciszewski A, Kasai K, Lasko NB, Orr SP, Pitman RK. Smaller hippocampal volume predicts pathologic vulnerability to psychological trauma. *Nat Neurosci*. 2002 ;5(11):1242-7.
- 329 Dolan RJ. The human amygdala and orbital prefrontal cortex in behavioural regulation. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2007;362(1481):787-99.
- 330 Post RM, Rubinow DR, Ballenger JC. Conditioning and sensitisation in the longitudinal course of affective illness. *The British Journal of Psychiatry*. 1986;149(2):191-201.
- 331 Mizielinska S, Greenwood S, Connolly CN. The role of GABAA receptor biogenesis, structure and function in epilepsy. *Biochemical Society transactions*. 2006;34(5):863-867.
- 332 Carrion VG, Weems CF, Eliez S, Patwardhan A, Brown W, Ray RD, Reiss AL. Attenuation of frontal asymmetry in pediatric posttraumatic stress disorder. *Biol Psychiatry*. 2001;50(12):943-51.
- 333 Driessen M, Herrmann J, Stahl K, Zwaan M, Meier S, Hill A, Osterheider M, Petersen D. Magnetic resonance imaging volumes of the hippocampus and the amygdala in women with borderline personality disorder and early traumatization. *Arch Gen Psychiatry*. 2000;57(12):1115-22.
- 334 Woon FL, Hedges DW. Hippocampal and amygdala volumes in children and adults with childhood maltreatment-related posttraumatic stress disorder: a meta-analysis. *Hippocampus*. 2008;18(8):729-36.

- 
- 335 Yang Y, Raine A. Prefrontal structural and functional brain imaging findings in antisocial, violent, and psychopathic individuals: a meta-analysis. *Psychiatry Res.* 2009;174(2):81-8.
- 336 Leh SE, Petrides M, Strafella AP. The neural circuitry of executive functions in healthy subjects and Parkinson's disease. *Neuropsychopharmacology.* 2010;35(1):70-85.
- 337 Thatcher RW. Cyclic cortical reorganization during early childhood. *Brain and cognition.* 1992;20(1), 24-50.
- 338 Teicher MH, Ito Y, Glod CA, Schiffer F, Gelbard HA . Neurophysiological mechanisms of stress response in children. Severe stress and mental disturbance in children. 1996.
- 339 Carrion VG, Weems CF, Watson C, Eliez S, Menon V, Reiss AL. Converging evidence for abnormalities of the prefrontal cortex and evaluation of midsagittal structures in pediatric posttraumatic stress disorder: an MRI study. *Psychiatry Res.* 2009;172(3):226-34.
- 340 Richert KA, Carrion VG, Karchemskiy A, Reiss AL. Regional differences of the prefrontal cortex in pediatric PTSD: an MRI study. *Depress Anxiety.* 2006;23(1):17-25.
- 341 Hanson JL, Chung MK, Avants BB, Shirtcliff EA, Gee JC, Davidson RJ, Pollak SD. Early stress is associated with alterations in the orbitofrontal cortex: a tensor-based morphometry investigation of brain structure and behavioral risk. *J Neurosci.* 2010;30(22):7466-72.
- 342 Tomoda A, Suzuki H, Rabi K, Sheu YS, Polcari A, Teicher MH. Reduced prefrontal cortical gray matter volume in young adults exposed to harsh corporal punishment. *Neuroimage.* 2009;47 Suppl 2:T66-71.
- 343 McCrory E, De Brito SA, Viding E. Research review: the neurobiology and genetics of maltreatment and adversity. *J Child Psychol Psychiatry.* 2010;51(10):1079-95.
- 344 De Bellis MD, Kuchibhatla M. Cerebellar volumes in pediatric maltreatment-related posttraumatic stress disorder. *Biol Psychiatry.* 2006;60(7):697-703.

- 
- <sup>345</sup> Baldaçara L, Jackowski AP, Schoedl A, Pupo M, Andreoli SB, Mello MF, Lacerda AL, Mari JJ, Bressan RA. Reduced cerebellar left hemisphere and vermal volume in adults with PTSD from a community sample. *J Psychiatr Res.* 2011;45(12):1627-33.
- <sup>346</sup> Kitayama N, Quinn S, Bremner JD. Smaller volume of anterior cingulate cortex in abuse-related posttraumatic stress disorder. *J Affect Disord.* 2006;90(2-3):171-4.
- <sup>347</sup> Cohen RA, Grieve S, Hoth KF, Paul RH, Sweet L, Tate D, Gunstad J, Stroud L, McCaffery J, Hitsman B, Niaura R, Clark CR, McFarlane A, Bryant R, Gordon E, Williams LM. Early life stress and morphometry of the adult anterior cingulate cortex and caudate nuclei. *Biol Psychiatry.* 2006;59(10):975-82.
- <sup>348</sup> Treadway MT, Grant MM, Ding Z, Hollon SD, Gore JC, Shelton RC. Early adverse events, HPA activity and rostral anterior cingulate volume in MDD. *PLoS One.* 2009;4(3):e4887.
- <sup>349</sup> Marengo S, Siuta MA, Kippenhan JS, Grodofsky S, Chang WL, Kohn P, Mervis CB, Morris CA, Weinberger DR, Meyer-Lindenberg A, Pierpaoli C, Berman KF. Genetic contributions to white matter architecture revealed by diffusion tensor imaging in Williams syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007;104(38):15117-22.
- <sup>350</sup> Sito web: <http://www.nmr.mgh.harvard.edu>.
- <sup>351</sup> Eluvathingal TJ, Chugani HT, Behen ME, Juhász C, Muzik O, Maqbool M, Chugani DC, Makki M. Abnormal brain connectivity in children after early severe socioemotional deprivation: a diffusion tensor imaging study. *Pediatrics.* 2006;117(6):2093-100.
- <sup>352</sup> Jackowski AP, Douglas-Palumberi H, Jackowski M, Win L, Schultz RT, Staib LW, Krystal JH, Kaufman J. Corpus callosum in maltreated children with posttraumatic stress disorder: a diffusion tensor imaging study. *Psychiatry Res.* 2008;162(3):256-61.
- <sup>353</sup> Choi J, Jeong B, Polcari A, Rohan ML, Teicher MH. Reduced fractional anisotropy in the visual limbic pathway of young adults witnessing domestic violence in childhood. *Neuroimage.* 2012;59(2):1071-9.

- 
- 354 Seckfort DL, Paul R, Grieve SM, Vandenberg B, Bryant RA, Williams LM, Clark CR, Cohen RA, Bruce S, Gordon E. Early Life Stress on Brain Structure and Function Across the Lifespan: A Preliminary Study. *Brain Imaging and Behavior*. 2008;2(1):49-58.
- 355 Ugwu ID, Amico F, Carballedo A, Fagan AJ, Frodl T. Childhood adversity, depression, age and gender effects on white matter microstructure: a DTI study. *Brain Struct Funct*. 2014.
- 356 Teicher MH, Samson JA, Sheu YS, Polcari A, McGreenery CE. Hurtful words: association of exposure to peer verbal abuse with elevated psychiatric symptom scores and corpus callosum abnormalities. *Am J Psychiatry*. 2010;167(12):1464-71.
- 357 Huang H, Gundapuneedi T, Rao U. White matter disruptions in adolescents exposed to childhood maltreatment and vulnerability to psychopathology. *Neuropsychopharmacology*. 2012;37(12):2693-701.
- 358 Brietzke E, Kauer Sant'anna M, Jackowski A, Grassi-Oliveira R, Bucker J, Zugman A, Mansur RB, Bressan RA. Impact of childhood stress on psychopathology. *Rev Bras Psiquiatr*. 2012;34(4):480-8.
- 359 Clark DB, De Bellis MD, Lynch KG, Cornelius JR, Martin CS. Physical and sexual abuse, depression and alcohol use disorders in adolescents: onsets and outcomes. *Drug Alcohol Depend*. 2003;69(1):51-60.
- 360 Kendall-Tackett KA, Williams LM, Finkelhor D. Impact of sexual abuse on children: a review and synthesis of recent empirical studies. *Psychol Bull*. 1993;113(1):164-80.
- 361 Anda RF, Whitfield CL, Felitti VJ, Chapman D, Edwards VJ, Dube SR, Williamson DF. Adverse childhood experiences, alcoholic parents, and later risk of alcoholism and depression. *Psychiatric services*. 2002;53(8):1001-1009.
- 362 Rohsenow DJ, Corbett R, Devine D. Molested as children: a hidden contribution to substance abuse? *J Subst Abuse Treat*. 1988;5(1):13-8.
- 363 Kolk van der BA, Perry JC, Herman JL. Childhood origins of self-destructive behavior. *Am J Psychiatry*. 1991;148(12):1665-71.
- 364 Putnam FW. Cherish your exceptions. *J Child Sex Abus*. 2003;12(2):133-5.

- 
- <sup>365</sup> De Bellis MD. Developmental traumatology: a contributory mechanism for alcohol and substance use disorders. *Psychoneuroendocrinology*. 2002;27(1-2):155-70.
- <sup>366</sup> Kendler KS, Bulik CM, Silberg J, Hettema JM, Myers J, Prescott CA. Childhood sexual abuse and adult psychiatric and substance use disorders in women: an epidemiological and cotwin control analysis. *Arch Gen Psychiatry*. 2000;57(10):953-9.
- <sup>367</sup> Jacobson L. Forebrain glucocorticoid receptor gene deletion attenuates behavioral changes and antidepressant responsiveness during chronic stress. *Brain Res*. 2014.
- <sup>368</sup> Binder EB, Bradley RG, Liu W, Epstein MP, Deveau TC, Mercer KB, Tang Y, Gillespie CF, Heim CM, Nemeroff CB, Schwartz AC, Cubells JF, Ressler KJ. Association of FKBP5 polymorphisms and childhood abuse with risk of posttraumatic stress disorder symptoms in adults. *JAMA*. 2008;299(11):1291-305.
- <sup>369</sup> Bradley RG, Binder EB, Epstein MP, Tang Y, Nair HP, Liu W, Gillespie CF, Berg T, Evces M, Newport DJ, Stowe ZN, Heim CM, Nemeroff CB, Schwartz A, Cubells JF, Ressler KJ. Influence of child abuse on adult depression: moderation by the corticotropin-releasing hormone receptor gene. *Arch Gen Psychiatry*. 2008;65(2):190-200.
- <sup>370</sup> Klengel T, Mehta D, Anacker C, Rex-Haffner M, Pruessner JC, Pariante CM, Pace TW, Mercer KB, Mayberg HS, Bradley B, Nemeroff CB, Holsboer F, Heim CM, Ressler KJ, Rein T, Binder EB. Allele-specific FKBP5 DNA demethylation mediates gene-childhood trauma interactions. *Nat Neurosci*. 2013;16(1):33-41.
- <sup>371</sup> Cooke BM, Weathington JM. Human and animal research into sex-specific effects of child abuse. *Horm Behav*. 2014 ;65(4):416-26.
- <sup>372</sup> Pechtel P, Pizzagalli DA. Effects of early life stress on cognitive and affective function: an integrated review of human literature. *Psychopharmacology (Berl)*. 2011;214(1):55-70.
- <sup>373</sup> Atkinson, Hilgard. *Introduzione alla psicologia*. Piccin, Padova 2006.

- 
- 374 Kendall-Tackett KA, Eckenrode J. The effects of neglect on academic achievement and disciplinary problems: a developmental perspective. *Child Abuse Negl.* 1996;20(3):161-9.
- 375 Navalta CP, Polcari A, Webster DM, Boghossian A, Teicher MH. Effects of childhood sexual abuse on neuropsychological and cognitive function in college women. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci.* 2006;18(1):45-53.
- 376 Majer M, Nater UM, Lin JM, Capuron L, Reeves WC. Association of childhood trauma with cognitive function in healthy adults: a pilot study. *BMC Neurol.* 2010;10:61.
- 377 Loman MM, Wiik KL, Frenn KA, Pollak SD, Gunnar MR. Postinstitutionalized children's development: growth, cognitive, and language outcomes. *J Dev Behav Pediatr.* 2009;30(5):426-34.
- 378 Sonuga-Barke EJ, Rubia K. Inattentive/overactive children with histories of profound institutional deprivation compared with standard ADHD cases: a brief report. *Child Care Health Dev.* 2008;34(5):596-602.
- 379 Carrey NJ, Butter HJ, Persinger MA, Bialik RJ. Physiological and cognitive correlates of child abuse. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry.* 1995;34(8):1067-75.
- 380 Prasad MR, Kramer LA, Ewing-Cobbs L. Cognitive and neuroimaging findings in physically abused preschoolers. *Arch Dis Child.* 2005;90(1):82-5.
- 381 Nolin P, Ethier L. Using neuropsychological profiles to classify neglected children with or without physical abuse. *Child Abuse Negl.* 2007;31(6):631-43.
- 382 DE Bellis MD, Hooper SR, Spratt EG, Woolley DP. Neuropsychological findings in childhood neglect and their relationships to pediatric PTSD. *J Int Neuropsychol Soc.* 2009;15(6):868-78.
- 383 Pollak SD, Nelson CA, Schlaak MF, Roeber BJ, Wewerka SS, Wiik KL, Frenn KA, Loman MM, Gunnar MR. Neurodevelopmental effects of early deprivation in postinstitutionalized children. *Child Dev.* 2010;81(1):224-36.

- 
- 384 Bremner JD, Randall P, Scott TM, Capelli S, Delaney R, McCarthy G, Charney DS. Deficits in short-term memory in adult survivors of childhood abuse. *Psychiatry Res.* 1995;59(1-2):97-107.
- 385 Twamley EW, Hami S, Stein MB. Neuropsychological function in college students with and without posttraumatic stress disorder. *Psychiatry Res.* 2004;126(3):265-74.
- 386 Cole SZ, Lanham JS. Failure to thrive: an update. *Am Fam Physician.* 2011;83(7):829-34.
- 387 Tomoda A. [Preliminary evidence of neurobiological and behavioral consequences of exposure to childhood maltreatment on regional brain development]. *No To Hattatsu.* 2011;43(5):345-51.
- 388 Atilola O, Omigbodun O, Bella-Awusah T, Lagunju I, Igbeneghu P. Neurological and intellectual disabilities among adolescents within a custodial institution in South-West Nigeria. *J Psychiatr Ment Health Nurs.* 2014;21(1):31-8.
- 389 Pesonen AK, Räikkönen K. The lifespan consequences of early life stress. *Physiol Behav.* 2012;106(5):722-7.
- 390 Williams BR, Ponsesse JS, Schachar RJ, Logan GD, Tannock R. Development of inhibitory control across the life span. *Dev Psychol.* 1999;35(1):205-13.
- 391 Rubia K, Hyde Z, Halari R, Giampietro V, Smith A. Effects of age and sex on developmental neural networks of visual-spatial attention allocation. *Neuroimage.* 2010;51(2):817-27.
- 392 Deppermann S, Storchak H, Fallgatter AJ, Ehlis AC. Stress-induced neuroplasticity: (mal)adaptation to adverse life events in patients with PTSD – a critical overview. *Neuroscience.* 2014;(14)00714-3.
- 393 Beers SR, De Bellis MD. Neuropsychological function in children with maltreatment-related posttraumatic stress disorder. *Am J Psychiatry.* 2002;159(3):483-6.
- 394 Yasik AE, Saigh PA, Oberfield RA, Halamandaris PV. Posttraumatic stress disorder: memory and learning performance in children and adolescents. *Biol Psychiatry.* 2007;61(3):382-8.



- 
- <sup>395</sup> Samuelson KW, Krueger CE, Burnett C, Wilson CK. Neuropsychological functioning in children with posttraumatic stress disorder. *Child Neuropsychol.* 2010;16(2):119-33.
- <sup>396</sup> Bos KJ, Fox N, Zeanah CH, Nelson LCA. Effects of early psychosocial deprivation on the development of memory and executive function. *Front Behav Neurosci.* 2009;3:16.
- <sup>397</sup> Bremner JD, Vermetten E, Afzal N, Vythilingam M. Deficits in verballarative memory function in women with childhood sexual abuse-related posttraumatic stress disorder. *J Nerv Ment Dis.* 2004;192(10):643-9.
- <sup>398</sup> McGaugh JL. Memory--a century of consolidation. *Science.* 2000;287(5451):248-51.
- <sup>399</sup> DePrince AP, Weinzierl KM, Combs MD. Executive function performance and trauma exposure in a community sample of children. *Child Abuse Negl.* 2009;33(6):353-61.
- <sup>400</sup> Colvert E1, Rutter M, Kreppner J, Beckett C, Castle J, Groothues C, Hawkins A, Stevens S, Sonuga-Barke EJ. Do theory of mind and executive function deficits underlie the adverse outcomes associated with profound early deprivation?: findings from the English and Romanian adoptees study. *J Abnorm Child Psychol.* 2008;36(7):1057-68.
- <sup>401</sup> Johnson AC. Developmental pathways to attention-deficit/hyperactivity disorder and disruptive behavior disorders: Investigating the impact of the stress response on executive functioning. *Clin Psychol Rev.* 2014;36C:1-12.
- <sup>402</sup> Reinhardt MC, Reinhardt CA. Attention deficit-hyperactivity disorder, comorbidities, and risk situations. *J Pediatr (Rio J).* 2013;89(2):124-30.
- <sup>403</sup> Prayez F, Wodon I, Van Hyfte S, Linkowski P. [Attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD) and child maltreatment: a review]. *Rev Med Brux.* 2012;33(2):75-86.
- <sup>404</sup> Scomparini LB, Santos Bd, Rosenheck RA, Scivoletto S. Association of child maltreatment and psychiatric diagnosis in Brazilian children and adolescents. *Clinics (Sao Paulo).* 2013;68(8):1096-102.
- <sup>405</sup> D'Andrea W, Ford J, Stolbach B, Spinazzola J, van der Kolk BA. Understanding interpersonal trauma in children: why we need a

- 
- developmentally appropriate trauma diagnosis. *Am J Orthopsychiatry*. 2012 Apr;82(2):187-200.
- <sup>406</sup> Lindert J, von Ehrenstein OS, Grashow R, Gal G, Braehler E, Weisskopf MG. Sexual and physical abuse in childhood is associated with depression and anxiety over the life course: systematic review and meta-analysis. *Int J Public Health*. 2014;59(2):359-72.
- <sup>407</sup> Kocsis-Bogár K, Perczel Forintos D. The relevance of traumatic life events in schizophrenia spectrum disorders. *Ideggogy Sz*. 2014;67(9-10):301-8.
- <sup>408</sup> Dvir YI, Ford JD, Hill M, Frazier JA. Childhood maltreatment, emotional dysregulation, and psychiatric comorbidities. *Harv Rev Psychiatry*. 2014;22(3):149-61.
- <sup>409</sup> Vorria P, Papaligoura Z, Sarafidou J, Kopakaki M, Dunn J, Van Ijzendoorn MH, Kontopoulou A. The development of adopted children after institutional care: a follow-up study. *J Child Psychol Psychiatry*. 2006;47(12):1246-53.
- <sup>410</sup> Pine DS, Mogg K, Bradley BP, Montgomery L, Monk CS, McClure E, Guyer AE, Ernst M, Charney DS, Kaufman J. Attention bias to threat in maltreated children: implications for vulnerability to stress-related psychopathology. *Am J Psychiatry*. 2005;162(2):291-6.
- <sup>411</sup> Maheu FS, Dozier M, Guyer AE, Mandell D, Peloso E, Poeth K, Jenness J, Lau JY, Ackerman JP, Pine DS, Ernst M. A preliminary study of medial temporal lobe function in youths with a history of caregiver deprivation and emotional neglect. *Cogn Affect Behav Neurosci*. 2010;10(1):34-49.
- <sup>412</sup> Fries AB, Pollak SD. Emotion understanding in postinstitutionalized Eastern European children. *Dev Psychopathol*. 2004;16(2):355-69.
- <sup>413</sup> Pollak SD, Tolley-Schell SA. Selective attention to facial emotion in physically abused children. *J Abnorm Psychol*. 2003;112(3):323-38
- <sup>414</sup> Lyons-Ruth K. contributions of the mother-infant relationship to dissociative, borderline, and conduct symptoms in young adulthood. *Infant Ment Health J*. 2008;29(3):203-218.
- <sup>415</sup> Tottenham N, Hare TA, Quinn BT, McCarry TW, Nurse M, Gilhooly T, Millner A, Galvan A, Davidson MC, Eigsti IM, Thomas KM, Freed PJ,

- 
- Booma ES, Gunnar MR, Altemus M, Aronson J, Casey BJ. Prolonged institutional rearing is associated with atypically large amygdala volume and difficulties in emotion regulation. *Dev Sci.* 2010;13(1):46-61.
- 416 Ochsner KN, Gross JJ. The cognitive control of emotion. *Trends Cogn Sci.* 2005;9(5):242-9.
- 417 Xu Y, Ku B, Tie L, Yao H, Jiang W, Ma X, Li X. Curcumin reverses the effects of chronic stress on behavior, the HPA axis, BDNF expression and phosphorylation of CREB. *Brain Res.* 2006;1122(1):56-64.
- 418 Cohen S, Janicki-Deverts D, Doyle WJ, Miller GE, Frank E, Rabin BS, Turner RB. Chronic stress, glucocorticoid receptor resistance, inflammation, and disease risk. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2012;109(16):5995-9.
- 419 Beardslee WR, Gladstone TR, O'Connor EE. Developmental risk of depression: experience matters. *Child Adolesc Psychiatr Clin N Am.* 2012;21(2):261-78,
- 420 Breslow MF, Fankhauser MP, Potter RL, Meredith KE, Misiaszek J, Hope DG Jr. Role of gamma-aminobutyric acid in antipanic drug efficacy. *Am J Psychiatry.* 1989;146(3):353-6.
- 421 Mizoguchi K, Yuzurihara M, Ishige A, Sasaki H, Tabira T. Saiko-kyukotsu-borei-to, an herbal medicine, prevents chronic stress-induced disruption of glucocorticoid negative feedback in rats. *Life Sci.* 2002;72(1):67-77.
- 422 Holsboer F. The rationale for corticotropin-releasing hormone receptor (CRH-R) antagonists to treat depression and anxiety. *J Psychiatr Res.* 1999;33(3):181-214.
- 423 Thoresen S, Myhre M, Wentzel-Larsen T, Aakvaag HF, Hjemdal OK. Violence against children, later victimisation, and mental health: a cross-sectional study of the general Norwegian population. *Eur J Psychotraumatol.* 2015;6:26259.
- 424 van Delft I, Finkenauer C, Verbruggen J. Child Maltreatment and Social Connectedness Among Formerly Institutionalized Females: Links With Depression. *J Interpers Violence.* 2015.

- 
- 425 Mansbach-Kleinfeld I, Ifrah A, Apter A, Farbstein I. Child sexual abuse as reported by Israeli adolescents: Social and health related correlates. *Child Abuse Negl.* 2014.
- 426 O'Mahen HA, Karl A, Moberly N, Fedock G. The association between childhood maltreatment and emotion regulation: Two different mechanisms contributing to depression? *J Affect Disord.* 2014;174C:287-295.
- 427 Miller AB, Esposito-Smythers C, Weismoore JT, Renshaw KD. The relation between child maltreatment and adolescent suicidal behavior: a systematic review and critical examination of the literature. *Clin Child Fam Psychol Rev.* 2013;16(2):146-72.
- 428 Ganz D, Sher L. Adolescent suicide in New York City: plenty of room for new research. *Int J Adolesc Med Health.* 2012;24(2):99-104.
- 429 Wieck A, Grassi-Oliveira R, Hartmann do Prado C, Teixeira AL, Bauer ME. Neuroimmunoendocrine interactions in post-traumatic stress disorder: focus on long-term implications of childhood maltreatment. *Neuroimmunomodulation.* 2014;21(2-3):145-51.
- 430 Juang KD, Yang CY. Psychiatric comorbidity of chronic daily headache: focus on traumatic experiences in childhood, post-traumatic stress disorder and suicidality. *Curr Pain Headache Rep.* 2014;18(4):405.
- 431 Vidal-Ribas P, Stringaris A, Rück C, Serlachius E, Lichtenstein P, Mataix-Cols D. Are stressful life events causally related to the severity of obsessive-compulsive symptoms? A monozygotic twin difference study. *Eur Psychiatry.* 2014
- 432 Howell KH, Miller-Graff LE. Protective factors associated with resilient functioning in young adulthood after childhood exposure to violence. *Child Abuse Negl.* 2014;38(12):1985-94.
- 433 Fineberg NA, Krishnaiah RB, Moberg J, O'Doherty C. Clinical screening for obsessive-compulsive and related disorders. *Isr J Psychiatry Relat Sci.* 2008;45(3):151-63.
- 434 McCarthy-Jones S, McCarthy-Jones R. Body mass index and anxiety/depression as mediators of the effects of child sexual and physical

- 
- abuse on physical health disorders in women. *Child Abuse Negl.* 2014;38(12):2007-20.
- 435 Chen LP, Murad MH, Paras ML, Colbenson KM, Sattler AL, Goranson EN, Elamin MB, Seime RJ, Shinozaki G, Prokop LJ, Zirakzadeh A. Mayo Sexual abuse and lifetime diagnosis of psychiatric disorders: systematic review and meta-analysis. *Clin Proc.* 2010;85(7):618-29.
- 436 Reinhardt MC, Reinhardt CA. Attention deficit-hyperactivity disorder, comorbidities, and risk situations. *J Pediatr (Rio J).* 2013;89(2):124-30.
- 437 Hadianfard H. Child abuse in group of children with attention deficit-hyperactivity disorder in comparison with normal children. *Int J Community Based Nurs Midwifery.* 2014;2(2):77-84.
- 438 Reavis JA, Looman J, Franco KA, Rojas B. Adverse childhood experiences and adult criminality: how long must we live before we possess our own lives? *Perm J.* 2013;17(2):44-8.
- 439 Mueller SC, Maheu FS, Dozier M, Peloso E, Mandell D, Leibenluft E, Pine DS, Ernst M. Early-life stress is associated with impairment in cognitive control in adolescence: an fMRI study. *Neuropsychologia.* 2010;48(10):3037-44.
- 440 Draucker CB, Mazurczyk J. Relationships between childhood sexual abuse and substance use and sexual risk behaviors during adolescence: An integrative review. *Nurs Outlook.* 2013;61(5):291-310.
- 441 Jenny C, Crawford-Jakubiak JE; Committee on Child Abuse and Neglect; American Academy of Pediatrics. The evaluation of children in the primary care setting when sexual abuse is suspected. *Pediatrics.* 2013;132(2).
- 442 Tharp AT, DeGue S, Valle LA, Brookmeyer KA, Massetti GM, Matjasko JL. A systematic qualitative review of risk and protective factors for sexual violence perpetration. *Trauma Violence Abuse.* 2013;14(2):133-67.
- 443 De Zulueta F. *Dal dolore alla violenza.* Cortina, Milano 2006.
- 444 Carr CP, Martins CM, Stingel AM, Lemgruber VB, Juruena MF. The role of early life stress in adult psychiatric disorders: a systematic review according to childhood trauma subtypes. *J Nerv Ment Dis.* 2013;201(12):1007-20.

- 
- 445 McCrory E, De Brito SA, Viding E. The link between child abuse and  
psychopathology: a review of neurobiological and genetic research. *J R Soc  
Med.* 2012;105(4):151-6.
- 446 Balint M. Trauma and object relationship. *Int. J. Psycho-Anal.* 1969;50:429.
- 447 Winnicott DW. (1963), *Lo sviluppo dell'individuo dalla dipendenza  
all'indipendenza. In: Sviluppo affettivo e ambiente.* Armando, Roma 1970.
- 448 Bowlby J. (1969), Attachment and loss: Vol.1. Attachment. London Hogarth  
Press.
- 449 Laplanche J, Pontalis JB (1973). Enciclopedia della psicoanalisi. Laterza,  
Bari.
- 450 Freud S. (1892/1895), Meccanismo dei fenomeni isterici, In Opere, vol. II.  
Bollati Boringhieri, Torino 1968.
- 451 Fonagy P, Target M. (1997), Attaccamento e funzione riflessiva a: il loro  
ruolo nell'organizzazione del Se. In Lingiardi V, Ammaniti M (a cura di)  
*Attaccamento e funzione riflessiva*, Raffaello Cortina, Milano 2001.
- 452 Rocco P. *Il maltrattamento infantile e le sue conseguenze: prospettive  
contemporanee.* Facoltà di Psicologia, Università di Trieste.
- 453 Semi A. Psiconevrosi e trauma, In Semi A, *Trattato di psicoanalisi.*  
Raffaello Cortina Editore, Milano 1989.
- 454 Greenacre P. Trauma infantile e modelli genetici. In: *Studi psicoanalitici  
sullo sviluppo emozionale.* Martinelli, Firenze 1979.
- 455 Fairbain WRD. *Studi psicoanalitici sulla personalità.* Boringhieri, Torino  
1970.
- 456 Miller A. *La persecuzione del bambino. Le radici della violenza.* Bollati  
Boringhieri, Torino 1987.
- 457 Gunderson JC, Sabo A (1993), The fenomenological and conceptual  
interface between borderline personality disorder and PTSD. *Am J  
Psychiatry* 1993;150:19-27.
- 458 Vermetten E, Spiegel D. Trauma and dissociation: implications for  
borderline personality disorder. *Curr Psychiatry Rep.* 2014;16(2):434.
- 459 Irwin HJ (1994), Proneness to dissociation and traumatic childhood events. *J  
Nerv ment dis.* 1994;182:456-60.

- 
- 460 Chu JA, Dilll D., (1994), Proneness to dissociation and traumatic childhood events. *J Nerv Dis.* 1994;182:456-60.
- 461 David D, Giron A, Mellman TA (1995), Panic-Phobic patients and developmental trauma. *J Clin Psychiatry.* 1995;56:113-7.
- 462 Mancini C, Van Ameringen M, Macmillan H (1995), Relationship of childhood sexual abuse to anxiety disorders. *J Nerv Ment Dis.* 1995;183:309-14.
- 463 Triffleman EG, Marnar CR, De Lucchi KL, Ronfeldt H (1995), Childhood trauma and posttraumatic stress disorder in substance abuse inpatients. *J Nerv Ment Dis.* 1995;183:309-14.
- 464 Duncan RD, Saunders BE, Kilpatrick DG, Hanson RT, Resnik HS (1996), Childhood physical assault as a risk factor for PTSD, depression and substance abuse: a national survey. *Am J Orthopsychiatry.* 1996;66:437-48.
- 465 Van der Kolk BA, Fislser RE (1994), Childhood abuse and neglect and loss of self regulation. *Bull Menninger Clin.* 1994; 58:145-68.
- 466 Van der Kolk BA, Perry JC, Herman JL (1991), Childhood origins of self-destructive behavior. *Am J Psychiatry.* 1991;148:1665-71.
- 467 Garfinkel PE, Lin E, Goering P, Spegg C, Goldblomm DS, Kennedy S, et al (1995), Bulimia nervosa in Canadian community sample: prevalence and comparison of subgroup. *Am J Psychiatry.* 1995;152:1052-8.
- 468 Smith NB, Kouros CD, Meuret AE. The role of trauma symptoms in nonsuicidal self-injury. *Trauma Violence Abuse.* 2014 Jan;15(1):41-56.
- 469 Cirillo S, Di Blasio P. *La famiglia maltrattante: diagnosi e terapia.* Cortina, Milano 1989.
- 470 Lecic-Tosevski D, Draganic-Gajic S, Pejovic-Milovancevic M, Popovic-Deusic S, Christodoulou N, Botbol M. Child is father of the man: child abuse and development of future psychopathology. *Psychiatriki.* 2014;25(3):185-91.
- 471 Gibson EL, Checkley S, Papadopoulos A, Poon L, Daley S, Wardle J. Increased salivary cortisol reliably induced by a protein-rich midday meal. *Psychosom Med.* 1999;61(2):214-24.

- 
- 472 Stimson RH, Mohd-Shukri NA, Bolton JL, Andrew R, Reynolds RM, Walker BR. The postprandial rise in plasma cortisol in men is mediated by macronutrient-specific stimulation of adrenal and extra-adrenal cortisol production. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014;99(1):160-8.
- 473 Sito web: [www.pediatricmri.nih.gov](http://www.pediatricmri.nih.gov).
- 474 Fink G. *Encyclopedia of Stress*. 2nd edition. Elsevier Inc. 2007.
- 475 Pruessner JC, Wolf OT, Hellhammer DH, Buske-Kirschbaum A, von Auer K, Jobst S, Kaspers F, Kirschbaum C. Free cortisol levels after awakening: a reliable biological marker for the assessment of adrenocortical activity. *Life Sci.* 1997;61(26):2539-49.
- 476 Achenbach TM, Rescorla LA. *Manual for the ASEBA school-age forms & profiles*. Burlington VT University of Vermont. Research center for children, youth, & families. 2001.
- 477 Achenbach TM, Rescorla LA. *Manual for the ASEBA pre-school forms & profiles*. Burlington VT University of Vermont. Research center for children, youth, & families. 2000.
- 478 Achenbach TM, Becker A, Döpfner M, Heiervang E, Roessner V, Steinhausen HC, Rothenberger A. Multicultural assessment of child and adolescent psychopathology with ASEBA and SDQ instruments: research findings, applications, and future directions. *J Child Psychol Psychiatry.* 2008;49(3):251-75.
- 479 Geller B, Warner K, Williams M, Zimmerman B. Prepubertal and young adolescent bipolarity versus ADHD: assessment and validity using the WASH-U-KSADS, CBCL and TRF. *J Affect Disord.* 1998 ;51(2):93-100.
- 480 Abidin RR. *Parenting Stress Index Professional Manual*. 3th edition, Par Inc. Lutz. 1995.
- 481 M Malacrea. *Il Parenting Stress Index come strumento di verifica dell'intervento di gruppo per caregiver di bambini vittime di abuso sessuale*. [www.centrotiama.it](http://www.centrotiama.it).
- 482 Derogatis LR. *SCL-90-R Manuale di Somministrazione e Scoring*. Giunti OS. Firenze. 2013.



- 
- <sup>483</sup> Bailey D, Colantonio D, Kyriakopoulou L, Cohen AH, Chan MK, Armbruster D, Adeli K. Marked biological variance in endocrine and biochemical markers in childhood: establishment of pediatric reference intervals using healthy community children from the CALIPER cohort. *Clin Chem*. 2013;59(9):1393-405.
- <sup>484</sup> Pervanidou P. Biology of post-traumatic stress disorder in childhood and adolescence. *J Neuroendocrinol*. 2008;20(5):632-8.
- <sup>485</sup> Gustafsson PE, Anckarsäter H, Lichtenstein P, Nelson N, Gustafsson PA. Does quantity have a quality all its own? Cumulative adversity and up- and down-regulation of circadian salivary cortisol levels in healthy children. *Psychoneuroendocrinology*. 2011;35(9):1410-5.
- <sup>486</sup> Fries E, Dettenborn L, Kirschbaum C. The cortisol awakening response (CAR): facts and future directions. *Int J Psychophysiol*. 2009 Apr;72(1):67-73.