

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

DIPARTIMENTO DI BIOLOGIA

Corso di Laurea in Biologia



ELABORATO DI LAUREA

***CURE PARENTALI ED EPIGENETICA NEI
VERTEBRATI***

Tutor: Prof.ssa Maria Berica Rasotto

Dipartimento di Biologia

Laureanda: Lucrezia Pol

ANNO ACCADEMICO 2021/2022

Introduzione.....	3
Capitolo 1: Epigenetica nei primi stadi dello sviluppo.....	6
1.1Stadio Embrionale.....	6
1.2Effetti dell’ambiente sociale precoce.....	8
Capitolo 2: Effetti delle cure parentali sull’epigenoma della prole.....	9
2.1Differenze in cure parentali tra gli organismi modello: <i>Gasterosteus aculeatus</i> , <i>Mus musculus</i> e primati.....	9
2.2Effetti delle cure parentali femminili sull’epigenetica.....	14
2.3Effetti delle cure parentali maschili sull’epigenetica.....	20
2.4Differenze tra effetti di cure parentali materne e paterne.....	24
Capitolo 3: Effetti delle cure parentali sull’epigenoma del genitore.....	25
Capitolo 4: Inizio degli studi su primati e uomo.....	26
4.1Primati.....	27
4.2Uomo.....	28
Conclusione.....	29
Bibliografia.....	31

Introduzione

Il termine “cure parentali” sta ad indicare una serie di comportamenti, precedenti o conseguenti alla nascita della prole, atti ad aumentare la sua possibilità di sopravvivenza, e, di conseguenza, la fitness [1]. Ciò può andare spesso a scapito della fitness del/dei genitore/i, in un delicato equilibrio genitori-figli. È quindi chiaro il fatto che si tratti di un ambito di studio estremamente complesso, che va a riguardare sia vertebrati che invertebrati e che presenta un'enorme variabilità interspecifica.

Un modo per suddividere le cure parentali a scopo di studio è distinguere tra quelle effettuate prima della nascita della prole e quelle invece successive all'evento. Partendo dall'analisi delle cure antecedenti alla nascita si ritrovano la preparazione di nidi o tane e i comportamenti di cura delle uova, fuori o dentro il corpo del genitore, fino alla loro schiusa. Tra esse può anche essere presente in senso lato la produzione dei gameti e il contenuto in tuorlo delle uova, in quanto queste componenti rappresentano un fattore discriminante sul tipo di cure che verranno effettuate in seguito. Infatti dalla tipologia di nutrimento e dalla sua quantità dipenderà poi l'intero pattern di sviluppo dell'organismo e delle cure di cui esso necessiterà e riceverà. Gli organismi appartenenti al regno animale sono notoriamente anisogami, è quindi possibile osservare due tipi di gameti: uno grande e poco mobile ma con contenuto importante dal punto di vista nutrizionale (chiamato per convenzione ovulo o gamete femminile) e un gamete piccolo e molto mobile ma con un minore contenuto trofico (lo spermatozoo o gamete maschile). Il costo della produzione dei due gameti, negli animali gonocorici è quindi sbilanciato, causando una conseguente differenza nel comportamento riproduttivo, allo scopo di massimizzare la qualità degli accoppiamenti nelle femmine e massimizzarne invece il numero nei maschi. La quantità di tuorlo prodotta dalla femmina e la grandezza dell'embrione sono anch'essi variabili nei vari phyla e sottoposti a pressioni contrapposte, per aumentare alternativamente la fitness della medesima o della prole. Proseguendo con l'osservazione delle cure antecedenti alla nascita si ritrova la preparazione di nidi o tane e la conseguente difesa da altri contendenti. Questo comportamento, spesso di competenza maschile, è osservabile sia in vertebrati che in invertebrati e può assumere anche lo scopo secondario di attirare un possibile partner. La cura delle uova dipende da

numerosi fattori legati al meccanismo di termoregolazione dell'animale e al tipo di riproduzione. Negli animali ectotermi, infatti, oltre alle necessità di protezione da predatori e parassiti e riduzione del rischio di predazione condivisi con gli endotermi, ci sono anche quelle di controllo di fattori ambientali come umidità, livello di ossigeno e salinità. Le uova possono essere deposte (in tane, legate al corpo dell'animale o a componenti ambientali) oppure possono essere ritenute all'interno del corpo della femmina, condizione spesso legata a ovoviviparità o viviparità. Il nutrimento per l'uovo o embrione in quest'ultimo caso è provvisto in varia maniera e rappresenta un diverso costo per la madre, spesso non facile da quantificare totalmente [1].

Tra le cure posteriori alla nascita o schiusa delle uova, invece, si annoverano il nutrimento e la cura della prole, a volte anche successive all'indipendenza nutrizionale. Esse possono essere presenti sia in vertebrati che in invertebrati di entrambi i sessi, con possibile diversa specializzazione, e consistere in protezione da parassiti e predatori, nutrimento e, nelle specie sociali, insegnamento del comportamento sociale. La dieta della prole spesso può essere dissimile da quella del genitore, che deve quindi procacciare o processare il cibo adeguatamente oppure addirittura fornirlo tramite la crescita di epiteli o la secrezione di sostanze specifiche. Come è facile prevedere, la dieta in fase giovanile o larvale è molto importante per l'accrescimento corporeo e quindi direttamente per la sopravvivenza e il successo riproduttivo. Dopo l'indipendenza nutrizionale le cure fornite dai genitori consistono ancora nella difesa dai predatori, nel trasferimento di informazioni per il recupero del cibo e, nel caso di specie che vivono in gruppo, nell'insegnamento dei comportamenti sociali [1].

Tutte queste accortezze sono atte a garantire la migliore possibilità di sopravvivenza sia per la prole che per i genitori, con un preciso bilancio tra costi e benefici, questo è quindi l'argomento bersaglio di numerosissimi studi biologici. Limitatamente all'ambito delle cure parentali, recentemente lo studio di questo rapporto si è arricchito di un nuovo aspetto, si è iniziato infatti a focalizzare l'attenzione sugli effetti delle cure parentali in termini di modifiche dell'epigenoma della prole e sul loro significato nel corso della vita della stessa. Questo elaborato si occupa quindi della relazione tra cure parentali ed epigenetica

analizzando i pattern di cura di alcune specie modello, come essi influenzano l'epigenoma della loro prole e con quali effetti biologici. Le specie modello sono state scelte in base al pattern di cure che esse presentano, ossia se la prole viene accudita dal padre, dalla madre o da entrambi i genitori. A questo scopo sono stati quindi presi in esame spinarello comune, *Gasterosteus aculeatus*, ed alcune specie di roditori. Si è deciso infine di terminare con due paragrafi su primati e uomo per presentare gli sviluppi più recenti della ricerca.

L'epigenetica consiste in tutte le modificazioni che avvengono nel DNA senza che ne venga alterata la sequenza nucleotidica, viene quindi cambiata in questo modo l'espressione genica nelle cellule e, di conseguenza, il loro fenotipo. La vita della cellula potrà in seguito proseguire completando il ciclo cellulare e trasmettendo alle cellule figlie il pattern di modificazioni epigenetiche, perciò anche il fenotipo e l'espressione genica alterati [3] [4]. Le variazioni dell'epigenoma nei vertebrati sono state osservate in ogni regione del genoma (esoni, introni, regioni intergeniche, promotori ed enhancer) e possono consistere, ad esempio, nella metilazione di alcune citosine, dando origine a delle 5-metilcitosine, oppure in modificazioni post traduzionali di proteine istoniche [2]. Pur essendo ritrovabili in ogni regione del genoma, è possibile osservare che esse si concentrano prevalentemente nelle regioni in prossimità delle proteine istoniche, in cui si possono osservare metilazione, acetilazione, fosforilazione, glicosilazione e ADP ribosilazione. Le modificazioni più frequenti consistono tuttavia in acetilazioni e metilazioni su residui di lisina nella parte ammino terminale dell'istone 3, oppure in regioni in cui in sequenza una citosina è seguita direttamente da una guanina. La logica che guida queste modificazioni è quella di rendere il DNA più o meno accessibile alla RNA polimerasi, allo scopo di inibire o facilitare la trascrizione, modificando l'interazione tra la sequenza di DNA e le proteine istoniche [4]. Oltre a quelle che presentano come bersaglio le proteine istoniche, si possono osservare modificazioni epigenetiche che hanno effetto su RNA non codificanti, cioè RNA non direttamente coinvolti nella traduzione di proteine ma che invece possono impedire la trascrizione di coding RNA, controllando quindi la sintesi proteica nelle cellule. Questi non coding RNA fungono dunque da regolatori epigenetici e la loro sintesi può essere modificata e controllata [4]. L'effetto delle modifiche dipende dalla regione bersaglio ma genericamente è possibile affermare che un

maggior numero di acetilazioni induce l'attivazione della trascrizione, mentre la metilazione degli istoni ha un effetto inibitorio o attivatorio della trascrizione a seconda della posizione del residuo di lisina alterato [5].

Le modificazioni epigenetiche inoltre hanno la peculiarità di essere ereditabili, ossia di poter essere trasmesse alla prole, e, in alcuni casi, di poter essere transienti (non permanere per l'intera vita dell'organismo ma solamente in alcune fasi del suo sviluppo) il tutto mantenendo la peculiarità di non alterare la sequenza genomica [3]. Gli studi riguardanti l'epigenoma e le sue variazioni non sono ancora conclusi e quindi non sono ancora noti totalmente i meccanismi mediatori tra la percezione ambientale o sociale e l'effetto genetico, risulta però essere chiara la presenza di una relazione tra questi fattori. È quindi possibile un'ulteriore regolazione del genoma guidata da fattori ambientali o sociali, in modo dipendente da stimoli di varia natura, come ad esempio la temperatura, la dieta, l'esposizione a sostanze specifiche o il subire alcuni comportamenti da parte di altri organismi [3]. Studi recenti mostrano come anche le cure parentali possano essere una fonte di variazioni epigenetiche.

Capitolo 1: Epigenetica nei primi stadi dello sviluppo

1.1 Stadio embrionale

Una fase in cui un organismo è particolarmente suscettibile a modificazioni epigenetiche e in cui si può già osservarne la comparsa è durante il concepimento e, nei mammiferi, durante la gestazione, quando la vita di embrione e madre è particolarmente interconnessa. Le modificazioni che avvengono in questo periodo saranno quelle con la più ampia diffusione nell'organismo, data la rapida proliferazione cellulare che caratterizza questa prima fase della vita. Di conseguenza queste variazioni di espressione non sono confinate ad uno specifico tessuto come avviene per quelle che compariranno più tardi durante lo sviluppo [3]. È quindi facilmente intuibile che una variazione delle condizioni di vita della madre o un'esposizione di essa a determinati fattori durante la gestazione possa essere determinante nella comparsa di modificazioni epigenetiche nell'embrione,

le quali avranno un impatto a largo spettro sulla sua vita futura. I fattori determinanti possono essere sia di origine ambientale che sociale e possono indurre nell'embrione l'insorgenza di diversi pathway di sviluppo, influenzando a lungo termine soprattutto metabolismo e sviluppo cerebrale [6]. Vi sono, ad esempio, evidenze di una chiara relazione tra una dieta della madre, durante la gestazione, scarsa o con un quantitativo troppo abbondante di grassi e un livello anomalo di metilazioni nel DNA fetale. La conseguenza di queste metilazioni, non ritrovabili nel DNA fetale di individui di controllo, è una maggiore probabilità di insorgenza di diabete nella vita adulta [3]. Un'altra evidenza analoga è stata riscontrata nel caso in cui le madri non potessero raggiungere il fabbisogno di metionina, folato alimentare e vitamina B12 in gravidanza, con come risultato la comparsa di gravi problemi di salute della prole in età adulta [3]. Dal punto di vista dello sviluppo cerebrale, invece, le carenze nutrizionali durante la gestazione sono risultate in un aumentato rischio di schizofrenia, disordini affettivi, personalità antisociale e altre anomalie durante il neurosviluppo [6]. Ad esempio, in topo l'esposizione in utero di metil-mercurio provoca un'ipermetilazione epigenomica che causa una predisposizione a comportamenti di natura depressiva [6].

Ne consegue quindi che l'adattamento del feto a carenze nutrizionali durante la gestazione è causa di alterazioni nella crescita o nello sviluppo post-natale e può influenzare la comparsa di gravi problemi di salute cronici in età adulta, il tutto dovuto a cambiamenti nelle metilazioni e dunque nell'epigenoma [3].

Oltre allo stato nutrizionale della madre, ulteriori studi hanno evidenziato una correlazione tra epigenoma fetale e condizioni psicologiche della madre, legate all'ambiente sociale in cui essa è immersa [6]. Un'analisi su campioni di sangue della prole di madri affette da depressione ha messo in luce il ruolo esercitato dai meccanismi epigenetici sull'esito dello sviluppo. Infatti, la prole di queste madri presentava anomalie nel livello di metilazione del DNA genomico in zone che hanno portato all'innalzamento dei livelli di cortisolo salivare, indice di disordini correlati allo stress. Il livello anomalo di stress ha alcune conseguenze sul cervello del neonato alterando la metilazione e quindi lo sviluppo dell'individuo sia a livello fisico che cerebrale [6].

1.2 Effetti dell'ambiente sociale precoce sull'epigenoma della prole

L'epigenoma può essere soggetto a cambiamenti lungo l'intera durata della vita dell'organismo a seconda delle condizioni in cui esso è immerso. Continuando ad analizzare la relazione tra le cure parentali e le modificazioni epigenetiche, un aspetto importante è dato dall'ambiente sociale precoce in cui viene a trovarsi la prole [3]. Per ambiente sociale precoce si intende tutto l'insieme di relazioni intraspecifiche a cui partecipa l'individuo nel primo periodo della sua vita. La relazione sicuramente più importante in termini di manipolazione del cervello della prole è quella che intercorre tra essa e il genitore che effettua le cure parentali in prevalenza. Gli effetti dell'ambiente precoce, sociale e non, sono particolarmente importanti perché, negli animali, si osserva una correlazione tra il grado di pluripotenza delle cellule e l'ampiezza di diffusione degli effetti delle modificazioni epigenetiche presenti in esse. La motivazione di questa diversità nella propagazione delle variazioni epigenetiche in dipendenza del grado di differenziamento cellulare è da attribuire alla maggiore stabilità dell'epigenoma di cellule completamente differenziate, poiché in esse si nota una maggiore stabilizzazione dei marker epigenetici e una minore azione dei regolatori della cromatina rispetto a quanto avviene allo stadio embrionale [3].

I risultati delle esperienze sociali precoci si osservano prevalentemente nello sviluppo del cervello e nel comportamento. Gli studi in questo campo sono stati condotti anche sull'uomo, in particolare per quanto riguarda il comportamento, e ne è emersa chiaramente la relazione tra esperienze sociali precoci negative e insorgenza di problemi quali scarsa abilità nelle relazioni interpersonali, limitate competenze emotive, maggior rischio di disordini depressivi e tentativi di suicidio [7].

Tuttavia la gran parte degli studi a riguardo è stata svolta sui roditori, nei quali è emerso come variazioni nelle cure e nell'ambiente sociale post-natali siano causate da modificazioni epigenetiche degli individui e risultano in variazioni del comportamento e dello sviluppo cerebrale [6]. Ulteriori studi hanno dimostrato che l'ambiente sociale precoce non è in grado di influenzare l'organismo solamente nelle fasi iniziali della sua vita, ma che invece questo effetto si protrae anche in età giovanile. Ciò suggerisce la presenza di una plasticità anche durante

periodi più avanzati dello sviluppo [6]. Ad esempio, in giovani macachi, *Macaca mulatta*, posti in isolamento si è osservato un aumento del livello di cortisolo e una risposta immunitaria diminuita rispetto a conspecifici cresciuti in condizioni normali di socialità [6]. In giovani topi, *Mus musculus*, isolati dai coetanei è stata invece osservata una “sindrome da isolamento”, caratterizzata da cambiamenti comportamentali e neuroendocrini attenuabili attraverso l’utilizzo di antidepressivi [6].

Al contrario, ponendo i giovani in un ambiente socialmente e fisicamente arricchente si osservano risultati opposti: aumento della plasticità sinaptica, miglioramento della cognizione e riduzione dei comportamenti legati a uno stato d’ansia. La presenza di un ambiente con un’elevata complessità ha come seconda conseguenza quella di compensare eventuali mancanze nello sviluppo cerebrale o nel comportamento dovute a un’esposizione a sostanze che influenzano negativamente lo sviluppo durante la vita prenatale o postnatale. In ratto, ad esempio, è stata osservata una diminuzione dei livelli di risposta allo stress e un aumento del comportamento sociale. Nei topi, usati come modello per lo studio di malattie quali il morbo di Huntington o l’Alzheimer, l’effetto dell’ambiente ricco di stimoli in fase giovanile ha evidenziato un successivo rallentamento nella progressione della malattia [6].

Capitolo 2: Effetti delle cure parentali sull’epigenoma della prole

2.1 Differende in cure parentali tra gli organismi modello: *Gasterosteus aculeatus*, *Mus musculus* e primati

Per capire come i diversi pattern di cure parentali possano influenzare l’epigenoma della prole è innanzitutto fondamentale capire quale sia questo pattern nelle specie studiate, allo scopo di metterlo in relazione con le modificazioni ritrovate. I modelli animali presi in esame in questo elaborato sono un pesce teleosteo, lo spinarello, a cure parentali maschili e diverse specie di mammiferi: topo, macaco e bertuccia. Di seguito vengono riportate alcune brevi note sulle tipologie di cure presenti in queste specie.

Spinarello comune: *Gastrosteus aculeatus*

Il nome normalmente utilizzato per riferirsi a esemplari della specie *Gastrosteus aculeatus* è spinarello. Si tratta di un piccolo pesce osteitico diffuso in acque dolci, salate o salmastre dell'emisfero settentrionale, con lunghezza massima attorno ai 10 cm e corpo affusolato compresso lateralmente. Alcune delle sue caratteristiche principali sono la presenza di uno scudo osseo che circonda il corpo con un numero variabile di placche; inoltre questo organismo presenta una serie di spine a cui deve il nome. Dorsalmente le spine sono presenti in numero di tre, di cui le prime due sono grandi e indipendenti dalla pinna dorsale, la terza spina dorsale si trova invece anteriormente ad essa. Ventralmente sono presenti altre due spine, nominate come anali, in corrispondenza della pinna anale [29]. Dal punto di vista delle cure parentali lo spinarello presenta un pattern abbastanza peculiare ed è per questo utilizzato come specie di studio. In questo caso il contributo della femmina alle cure parentali è essenzialmente citoplasmatico, cioè si riduce alla formazione dell'uovo e all'apposizione in esso dei nutrienti necessari per lo sviluppo. I comportamenti di cura parentale in questa specie invece sono svolti interamente dagli esemplari di sesso maschile con una spesa importante di energie, consumando durante la stagione riproduttiva quasi interamente le loro scorte di lipidi e glicogeno [8]. I costi riproduttivi maschili si compongono delle energie dedicate ad attirare le femmine e di quelle spese nelle cure parentali al fine di crescere la prole, queste ultime consistono nella difesa delle uova dai predatori e nella loro ventilazione, attraverso movimenti delle pinne pettorali. Una volta che le uova si sono schiuse i maschi provvedono poi, se necessario, al recupero degli avannotti che dovessero allontanarsi dal nido. Il nutrimento durante lo sviluppo embrionale è invece fornito dalla madre grazie alle riserve contenute nel tuorlo dell'uovo [9]. La spiegazione del maggiore contributo maschile alle cure parentali nei pesci e, in particolare, in questa specie, sembra essere correlata alla fecondazione esterna ed al fatto che i maschi si occupino della difesa del territorio, territorio in cui possono deporre le uova numerose femmine. I motivi che spiegano questa correlazione sono da ritrovarsi sempre nel rapporto tra costi e benefici che hanno portato all'evoluzione di questo tipo di pattern di cure [10]. La spiegazione risiederebbe nel fatto che il beneficio dell'effettuare le cure è rappresentato dalla sopravvivenza degli avannotti ed esso non varia in base al genitore che le esegue. Il discorso è diverso però per quanto riguarda i costi,

infatti i maschi di specie a fecondazione esterna possono controllare nello stesso nido un gran numero di uova provenienti anche da femmine diverse, rappresentando quindi un costo minore da assumersi. In alcuni casi l'aver un gran numero di uova nel nido potrebbe anzi rivelarsi un beneficio, infatti ciò può contribuire ad attirare altre femmine [10].

Lo sforzo e la successiva efficienza del maschio nella cura del territorio e delle uova sottostanno anch'essi ad un preciso rapporto rischi-benefici; infatti ogni comportamento di cura espone il maschio a pericoli e riduzione della propria fitness allo scopo di aumentare quella della prole. Il successo di tale operazione sarà maggiore, in primo luogo a seconda dello stato nutrizionale del maschio, in secondo luogo alla propensione del genitore a impiegare energie per la difesa delle uova. Ciò avviene in maniera direttamente proporzionale al loro numero nel nido ed al tempo in cui le medesime uova hanno passato nel nido, cioè la loro età. Secondo la stessa proporzionalità diminuisce anche il tempo che un maschio impiega per tornare al nido in seguito a una fuga motivata da un attacco di un altro organismo [8] [11].

Mammiferi

Negli endotermi le sfide rappresentate dall'ambiente esterno sono maggiori poiché i genitori hanno l'ulteriore compito di dover garantire il mantenimento di una temperatura corporea adeguata della prole. Questo rappresenta una limitazione al numero di figli che un individuo, o una coppia, riesce a portare all'indipendenza e rende indispensabili le cure parentali da parte di almeno un genitore. Tale limitazione non riguarda unicamente la femmina, infatti in queste specie anche il maschio non sarà in grado di occuparsi di prole proveniente da diverse femmine, limitando quindi anche il suo tasso di riproduzione nel caso fossero necessarie delle cure da entrambi i genitori. Inoltre, la fecondazione interna diminuisce la certezza della paternità, inducendo quindi il maschio a distaccarsi dalla prole. [12] [13]. Nei mammiferi dunque le cure parentali femminili si osservano in ogni specie, mentre quelle maschili risultano più rare.

Topo *Mus musculus*

Le cure parentali in topo possono essere divise in due tipi definiti: comportamento attivo e comportamento quiescente. I comportamenti di tipo attivo comprendono costruzione del nido, trasporto della prole da un luogo all'altro ed il leccare la prole. Per comportamenti quiescenti si intendono invece quelli con minore mobilità, come ad esempio scaldare o nutrire la cucciolata [13]. In topo vi è la presenza di una tana cioè un luogo esclusivo dove verranno partoriti e nutriti i cuccioli; le cure parentali iniziano quindi dalla ricerca di un luogo adatto per la sua costruzione e dei materiali necessari da portare fino al sito. Si procede poi con le cure parentali presenti dopo la nascita della cucciolata, attive o quiescenti a seconda delle necessità. Lo spostamento dei cuccioli può ritenersi necessario ad esempio nel caso in cui essi si siano allontanati dal nido, oppure nel caso ci sia bisogno di spostarli da un luogo all'altro. Queste manovre vengono effettuate dai genitori e iniziano con il riconoscimento della prole grazie all'odorato, essa viene poi sollevata tramite i denti e trasportata fino al sito adeguato. Un altro comportamento che appartiene alle cure parentali attive è quello di leccare i cuccioli; in topo ciò ha più scopi, ossia: pulire la prole, aumentare la sua attività e permette ad essa l'escrezione dei prodotti di rifiuto. Oltre a queste funzioni fisiologiche leccare i figli ha anche effetti sul loro sviluppo emotivo, endocrino e sessuale. Trattando invece le cure quiescenti, esse sono indotte da un numero sufficiente di cuccioli intenti a poppare e consistono nelle varie posizioni che la madre può assumere e mantenere per prolungati periodi di tempo senza svolgere nessun'altra attività [13].

Primati

I primati non umani sono dei mammiferi euteri che comprendono i sottordini strepsirrini, platirrini e catarrini, ad eccezione del genere homo. Essi hanno habitus arboricolo diurno e sono presenti in habitat forestali di Asia, Africa e America. Altre caratteristiche proprie dei primati sono il fatto di essere plantigradi, pentadattili e spesso con pollice opponibile, inoltre presentano occhi ed emisferi cerebrali molto sviluppati. La coda può essere presente o meno [16]. La maggior parte dei primati vive in gruppi sociali, quindi le cure parentali sono complesse e comprendono anche insegnamenti sulla struttura sociale del gruppo e sulle modalità di comunicazione tra gli individui. Le specie di primati su cui si

sono concentrati gli studi sull'epigenomica delle cure parentali sono macachi e bertucce [4] [28].

I macachi, *Macaca mulatta*, sono una specie in cui vi è una divisione piuttosto netta di compiti tra esemplari maschi e femmine; i maschi infatti si occupano principalmente della difesa dei gruppi sociali, mentre la cura della prole è prerogativa degli esemplari di sesso femminile [15]. Le cure parentali in queste specie sono molto complesse e servono, oltre a garantire alla prole il raggiungimento dell'indipendenza, anche ad insegnare ad essa i meccanismi della vita sociale nel branco. Nei macachi è presente una gerarchia tra le femmine che dipende dal rango della loro madre, ogni famiglia deve quindi sostenere i membri che la compongono e preservare il proprio status dai membri delle altre famiglie [16]. Le cure parentali maschili si identificano principalmente nella difesa dai predatori di madre e figli; questo comportamento ha scopo difensivo ma permette anche al maschio di potersi avvicinare alla madre come possibile futura partner, non è quindi chiaro quale sia lo scopo primario che spinge il maschio verso questo tipo di comportamento [17].

Nel caso delle bertucce, *Macaca sylvanus*, la struttura sociale viene definita a famiglie cooperative, cioè famiglie in cui sia il padre che i fratelli/sorelle più grandi aiutano nella cura, crescita e sopravvivenza dei nuovi nati. Il risultato di questa organizzazione è un successo riproduttivo superiore rispetto alle specie in cui le cure parentali sono compito esclusivo della madre. In questo caso si parla quindi di cure cooperative [15]. Essendo mammiferi, la parte di cura della prole che consiste in gravidanza ed allattamento è ovviamente effettuata dalla madre, il padre però collabora nelle cure parentali tramite difesa, fornitura di cibo e partecipazione alla termoregolazione sia della madre che del figlio. Inoltre il padre può aiutare anche nello spostamento della prole da un luogo ad un altro quando e se necessario [15]. In questo tipo di organizzazione sociale si può parlare anche di "allogenitori", questo termine sta ad indicare degli individui che aiutano nella crescita della prole nonostante non siano i genitori biologici della stessa. In questo caso gli allogenitori spesso ritardano la loro riproduzione nei periodi in cui si stanno occupando della prole di altri, ciò è solitamente accompagnato dalla riduzione di fertilità di almeno un sesso. Nelle bertucce ciò riguarda la femmina

che non ovula o, pur ovulando, non resta incinta. In questa specie di scimmie è stato dimostrato che la sopravvivenza della prole è linearmente legata con una proporzionalità diretta al numero di esemplari che aiutano in questo compito, raggiungendo un massimo con 5 aiutanti. Questo tipo di riproduzione permette alle femmine di far nascere più cuccioli per gestazione, di avere un numero medio di gravidanze maggiore rispetto ad altri primati e che i cuccioli raggiungano in buona percentuale l'indipendenza. Altri vantaggi di questo pattern sociale risiedono nell'aumentata fitness della madre grazie alla diminuzione della sua spesa energetica per le cure parentali e all'aiuto per procurare il cibo necessario alla prole durante lo svezzamento; è anche frequente la condivisione del cibo con il gruppo. Gli individui di sesso maschile, padre e allogenitori, partecipano infine anche alla difesa del gruppo sociale dai predatori, come avviene nelle specie dove non è presente questa specifica organizzazione [15].

2.2 Effetti delle cure parentali femminili sull'epigenetica

Per studiare le cure parentali femminili, in esclusiva o in compresenza con quelle maschili, è sicuramente utile usare dei mammiferi come specie modello; classe in cui esse sono presenti sia prima che dopo il parto. Le cure parentali da parte della madre sono uno stimolo importante per lo sviluppo della prole ed è determinante sia la loro presenza sia la durata delle stesse, allo scopo di modificare il comportamento e la fisiologia dell'organismo adulto. Alcuni degli effetti indotti dalle cure parentali materne possono anche avere un carattere transgenerazionale, come ad esempio le modificazioni epigenetiche che interessano geni che codificano per recettori degli steroidi; esse vanno quindi a influenzare espressione genica e comportamento della prole ed anche dei nipoti [18].

Prima di vedere gli effetti delle cure parentali materne è importante analizzare gli effetti della loro assenza sulla prole. Su questo argomento sono stati svolti numerosi studi sia su topo che su macaco. Per studiare gli effetti di una totale assenza di cure materne in topo è stata prelevata la prole dalla madre nel loro terzo giorno di vita, essa è poi stata cresciuta in completo isolamento sociale. I risultati dell'esperimento sono stati osservati nel comportamento anomalo di quegli stessi topi una volta adulti; essi infatti presentavano un atteggiamento più spaventato, ansioso e con iperattività locomotoria rispetto a dei topi cresciuti nel naturale

contesto sociale. Sono stati osservati anche disturbi cognitivi legati all'attenzione e lacune nei comportamenti sociali, comprese le cure parentali materne nelle femmine. Esse mostrano delle carenze nei comportamenti di licking/grooming e, in generale, nelle interazioni tra madre e cucciolo; inoltre risultano essere meno reattive agli inneschi ormonali di comportamenti materni. L'esperimento è stato ripetuto rimuovendo i cuccioli solo per 5 ore al giorno dalla madre nel periodo precedente allo svezzamento, ciò ha evidenziato effetti analoghi nel comportamento della prole una volta diventata adulta, ma con un'estensione minore. Pressoché le stesse osservazioni sono state rilevate in topi che hanno subito l'isolamento durante il periodo giovanile. Queste conseguenze sul comportamento sono causate da livelli anomali di ormoni che vanno a modificare l'attività cerebrale. Nella prole separata dalla madre si osservano infatti dei picchi nella concentrazione di ormoni glucocorticoidi, i quali causano una risposta amplificata allo stress e disturbi nelle funzioni cognitive. Inoltre in questi cuccioli si osservano una quantità minore di fattori neurotrofici nel cervello, la loro scarsità causa uno sviluppo neurale minore e una plasticità cerebrale ridotta rispetto al fenotipo normale; gli stessi effetti sono stati osservati anche in prole che ha subito cure parentali abusive da parte del genitore [18] [4].

Al fine di comprendere gli effetti di un alterato livello di cure parentali femminili nella prole è necessario conoscere le basi della risposta allo stress nei mammiferi. La risposta allo stress è funzionale a preparare l'animale a dare una risposta di tipo "fight or flight" (letteralmente "combatti o fuggi") in modo rapido nel caso risultasse necessario, allo scopo di aumentare le probabilità di sopravvivenza [30]. Essenzialmente la cascata di segnale innescata dalla situazione di stress inizia con lo stimolo percepito a livello di sistema nervoso centrale, esso invia un segnale a livello ipotalamico affinché produca il fattore di rilascio per le corticotropine (CRF). Conseguenzialmente questo fattore va ad agire sull'ipofisi stimolando la stessa a produrre l'ormone adrenocorticotropo (ACTH), il quale a sua volta stimola la produzione di glucocorticoidi da parte della ghiandola surrenale. I glucocorticoidi hanno un doppio effetto, infatti essi possono agire sia a feedback positivo sull'intero precedente processo, sia possono entrare nel circolo sanguigno ed agire a distanza sui tessuti bersaglio per preparare la risposta; il tutto avviene grazie a specifici recettori per i glucocorticoidi (GR) [30].

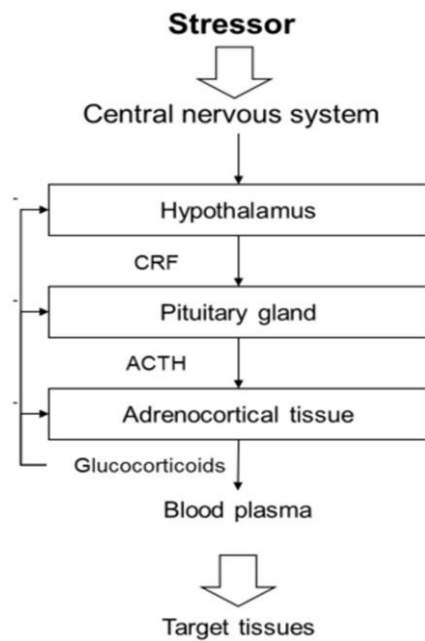


Figura 1

Disegno schematico dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene.

La primaria risposta fisiologica allo stress nei mammiferi è parzialmente mediata dall'asse ipotalamo-ipofisi-surrene (HPA). Uno stimolo stressante attiva il Sistema nervosa centrale e l'ipotalamo quindi rilascia il fattore di rilascio delle corticotropine (CRF) nell'ipofisi. L'ipofisi come risposta rilascia l'ormone adenocorticotropo (ACTH), il quale induce la sintesi ed il rilascio dei glucocorticoidi dalle

ghiandole surrenali al sangue. I glucocorticoidi influenzeranno poi I tessuti bersaglio in tutto il corpo principalmente allo scopo di aumentare la disponibilità energetica e inibire tutti i processi non direttamente necessari per l'immediata sopravvivenza. Ciascuno step dell'asse HPA si auto regola grazie ad una serie di processi a feedback. [30]

Per osservare la correlazione tra le cure parentali e le variazioni nell'epigenoma della prole è stato preso in considerazione il comportamento di licking/grooming in topo. Questo comportamento è uno di quelli maggiormente messi in atto dalla femmina durante il processo di cura della prole e consiste nel leccarne e pulirne il pelo. In particolare è stato osservato il legame tra un diverso livello di presenza di questo comportamento e la metilazione del DNA nella regione del promotore del gene GR (Nr3c19) che codifica per il recettore dei glucocorticoidi ed è coinvolto in risposte legate allo stress e al sistema immunitario [4]. Per osservare queste modificazioni sono stati scelti degli individui con lo stesso livello di metilazioni dopo la nascita e sono stati esposti a un diverso livello di cure di tipo LG. In individui che hanno ricevuto un basso quantitativo di cure LG rispetto a chi ne ha ricevute una quantità maggiore si osserva un elevato livello di metilazione del promotore del gene GR, causando di conseguenza un silenziamento della trascrizione [4]. Ad un minor livello di GR negli stessi individui è stata anche associata una maggior produzione dell'mRNA codificante per l'ormone ipotalamico per il rilascio delle corticotropine (CRH), ossia un ormone

neuropeptidico coinvolto nella regolazione delle risposte allo stress di tipo neuroendocrino, simpatico e comportamentale. Queste alterazioni di concentrazione di GR e CRH hanno la diretta conseguenza di aumentare la produzione di adrenocorticotropina e corticosterone in seguito a situazioni stressanti. Ciò si ripercuote quindi sulla risposta allo stress, infatti è stata osservata una maggiore difficoltà nel raggiungimento dei valori basali di corticosterone dopo la cessazione dello stimolo in questi organismi. A livello di comportamento ciò si traduce in una diminuzione dell'atteggiamento esplorativo nei test specifici per la sua misurazione, ad esempio il test in campo aperto e il test elevated plus maze [18].

Il gene GR viene spesso utilizzato come esempio ma non è l'unico gene di cui varia la metilazione in conseguenza al comportamento LG materno. Questo comportamento risulta infatti avere effetti molto ampi di metilazione del DNA e acetilazione degli istoni a livello ipocampale, a livello di regolazione della glutammato decarbossilasi e del recettore metabotropico del glutammato, importanti per garantire il corretto funzionamento cerebrale. L'aumentato livello di metilazione presente nell'epigenoma di prole che ha ricevuto minori cure materne di tipo LG è correlato all'espressione incrementata di DNMT1 a livello ipocampale, gene che codifica per la DNA metiltransferasi 1, questo gene sembra quindi essere il responsabile della regolazione epigenetica [4].

Un altro effetto a livello ipotalamico causato da un livello anomalo di cure materne del tipo LG in topo è un minor numero di recettori per gli estrogeni in organismi di sesso femminile a cui queste cure non sono state elargite in quantità adeguata rispetto agli organismi di controllo. Infatti questa mancanza causa una limitata trascrizione del gene che codifica per il tipo alpha di questi recettori. In questo caso è osservabile una metilazione del promotore del gene più elevata, diminuzione della trimetilazione della proteina istonica H3K4 e aumento della trimetilazione della proteina istonica H3K9 rispetto alle condizioni di cura normale; condizioni non presenti alla nascita della prole in esame. Le conseguenze sesso-specifiche di questa programmazione epigenetica potrebbero spiegare il dimorfismo sessuale osservato nei circuiti neuronali, innescato quindi dai comportamenti LG subiti durante lo sviluppo postnatale. Nei topi che invece

hanno ricevuto un livello più elevato di cure LG è stata osservata una maggiore acetilazione dell'istone 3 ippocampale, esso è correlato a promotori di geni che codificano per il fattore neurotrofico derivato del cervello (Bdnf). Ciò potrebbe causare aumenti transitori di concentrazione del fattore neurotrofico BDNF spiegando le modifiche a livello cerebrale [4].

Continuando ad osservare le modificazioni che avvengono nell'ipotalamo dipendenti dal comportamento materno di licking/grooming si può notare un livello alterato di legame del recettore dell'ossitocina ipotalamico che varia in modo direttamente proporzionale a seconda del comportamento LG. Inoltre i topi che hanno ricevuto un basso livello di cure LG presentano anche una scarsa sensibilità agli estrogeni, la quale non permette di aumentare i recettori dell'ossitocina come avverrebbe nella prole che ha ricevuto un livello adeguato di cure LG [18].

Gli effetti causati dal comportamento di tipo LG materno sembrano essere innescati dalla stimolazione tattile; infatti, se durante un periodo di tempo in cui i cuccioli vengono separati dalla madre, essi vengono stimolati con un pennello, viene osservato un aumento della concentrazione dell'ormone della crescita e dell'ornitina decarbossilasi, sostanze di cui normalmente, durante una separazione dalla madre, si osserva una diminuzione. È ritenuta quindi un'ipotesi probabile che siano importanti per lo sviluppo del cervello stimolazioni visive, olfattive, uditive e tattili, ognuna con effetti specifici nei sistemi neuroendocrini durante lo sviluppo [20].

La totalità delle variazioni nei processi fisiologici sopra descritte sono riconducibili a modificazioni di tipo epigenetico indotte dalle cure parentali, le quali a loro volta controllano l'espressione genica causando il suddetto risultato. Questo avviene grazie al fatto che gli input sociali innescano delle cascate di segnalazione nei neuroni, le quali a loro volta vengono tradotte in cambiamenti nella metilazione del genoma. In particolare si pensa che questa cascata di segnalazione coinvolga il recettore per le serotonine e causi un aumento di cAMP e il reclutamento del fattore di trascrizione NGFI-A. Questo fattore di trascrizione a sua volta recluta l'acetone acetil transferasi CBP, la proteina di legame per il

DNA metilato e invia la DNA demetilasi MBD2 al promotore di GR. Ciò causa un'acetilazione degli istoni aumentata rispetto a quanto avviene in assenza delle cure parentali femminili e questo è ritenuto responsabile della demetilazione del gene MBD2 o di altre DNA demetilasi. Il comportamento materno ha quindi come conseguenza nella prole di modificare l'epigenetica di specifici geni nella regione cerebrale; in ratto queste modifiche si concentrano nella metilazione del DNA e nell'acetilazione degli istoni del cromosoma 18, in ultima questo si traduce in un'espressione genica differente [20].

Una questione controversa riguarda se queste modifiche epigenetiche causate dalle cure parentali materne nella fase precoce della vita possano poi essere alterate. È stato osservato specificatamente che il pattern di metilazione del DNA non risulta essere stabile lungo il corso della vita. In particolare può essere iniettato nel cervello di un adulto che ha ricevuto scarse cure di tipo LG un inibitore dell'istone deacetilasi. Questa operazione ha come risultato di ripristinare il pattern epigenetico e ristabilire la responsività allo stress e la predisposizione all'esplorazione, analoghi a quelli di adulti che avevano ricevuto molte cure di tipo LG. Il processo funziona però anche in verso opposto; infatti iniettando in prole adulta con alta LG della metionina e un inibitore della demetilazione attiva si osserva una metilazione del DNA aumentata e una downregolazione di GR. Ciò si traduce in una responsività allo stress aumentata e un comportamento in campo aperto che era specifico della prole con basso LG materno. Grazie a questi esperimenti è possibile comprendere che, sia l'enzima responsabile della metilazione che quello responsabile della demetilazione, sono presenti anche nei neuroni dell'organismo adulto. Il pattern epigenetico stabilito in età infantile, inoltre, viene mantenuto grazie a un preciso bilanciamento dell'attività di questi due tipi di enzimi; attività che può essere modificata grazie a interventi con sostanze apposite. Queste sostanze possono essere farmaci, quindi introdotte, oppure prodotte anche dallo stesso organismo in seguito a interazioni sociali e cognitive durante la vita [20].

La conclusione è quindi che l'interazione tra madre e prole è importante per lo sviluppo della prole e presenta effetti a lungo termine sulle funzioni neuroendocrine e sul comportamento materno.

2.3 Effetti delle cure parentali maschili sull'epigenetica

Per quanto riguarda la sfera delle cure parentali esercitate dal padre, per osservarle è necessario rivolgere lo sguardo preferenzialmente su ciò che accade nei pesci, primariamente teleostei, in quanto questo è il phylum in cui questo tipo di cure è maggiormente diffuso, rispetto a quanto avviene nei mammiferi. L'evoluzione di un particolare pattern di cure parentali in un determinato phylum di organismi è da osservare nel contesto ecologico e sociale degli stessi, prendendo in considerazione il tipo di riproduzione, i rischi presenti per uova o prole nei primi stadi del ciclo vitale e la facilità di attribuzione della paternità. Ad esempio nei pesci teleostei, come lo spinarello, il lavoro di cura è principalmente rappresentato dalla difesa delle uova. Essendo generalmente la fecondazione esterna e le uova deposte in nidi difesi dal maschio, è facile per quest'ultimo conoscerne la paternità e curarne numerose, anche provenienti da femmine diverse, massimizzando quindi la sua fitness. In specie invece a fecondazione interna o che prevedono cure più complesse e prolungate, come i mammiferi, è vero il discorso opposto; la fitness del maschio, e quindi della specie, sarà aumentata rendendo il lavoro di cura un compito femminile, permettendo al maschio di aumentare il numero di possibili figli massimizzando il numero di accoppiamenti durante la stagione riproduttiva. In queste specie sarà quindi più frequente vedere la femmina occuparsi della cura della prole dopo la nascita con il maschio che talvolta svolge funzioni di difesa [21]. È da osservare però che, contrariamente a quanto avviene per la correlazione tra epigenetica e cure parentali materne, in cui gli studi sono diversi; per quanto riguarda gli studi sulla correlazione tra epigenetica della prole e cure parentali maschili essi sono un numero esiguo ed ancora in elaborazione.

Gasterosteus Aculeatus

Come precedentemente enunciato, in *Gasterosteus Aculeatus* le cure parentali sono effettuate esclusivamente dal maschio; quindi osservando i cambiamenti nell'epigenetica della prole si potrà osservare l'impatto delle cure paterne. In particolare in questa specie l'incubazione delle uova dura all'incirca 6 giorni, in cui il maschio ossigena le uova, rimuove uova non vitali e sporco e difende il territorio. Dopo la schiusa delle uova il maschio continua ad occuparsi della prole per un'altra settimana circa, in cui trova e riporta al nido gli individui che lo

lasciano [22]. Durante questo periodo il padre però non fornisce il nutrimento alla prole, quest'ultimo dipende dalla riserva di tuorlo fornita dalla madre [23].

Per osservare se effettivamente sono presenti dei collegamenti tra le cure parentali maschili e le modificazioni nell'epigenoma della prole, il primo passo è osservare se sono presenti delle differenze tra una prole orfana e una che invece ha potuto beneficiare delle cure da parte del padre. Una prole orfana in natura è risultata avere una probabilità di sopravvivenza molto bassa a causa dell'alto tasso di predazione, sia dei giovanili che delle uova. Proseguendo con lo studio e confrontando i giovanili sopravvissuti si è potuto osservare che l'ansia degli stessi in risposta a diversi fattori di stress era correlata con la qualità delle cure ricevute dal genitore. Infatti nei giovanili orfani si può osservare un comportamento che rivela un maggiore stato di ansia all'arrivo in un nuovo ambiente e durante un incontro con un predatore; ciò è rappresentato da una minore tendenza all'esplorazione, una maggiore ricerca di vie di fuga e un'irregolarità nei movimenti [23]. Se invece la separazione dal padre avviene dopo un periodo in cui i giovanili hanno potuto ricevere le cure è possibile fare un'ulteriore osservazione, ossia che il livello di ansia provata dagli stessi dopo la separazione dal padre è direttamente proporzionale alla qualità delle cure che ricevevano da esso, sostenendo quindi la tesi che le cure paterne abbiano delle conseguenze sul comportamento dei figli. Queste differenze riscontrabili tra i tipi di giovanili sono riconducibili a differenze nell'epigenoma nella prole. Tra i due gruppi di avannotti infatti è stata riscontrata una diversa azione di metilazione de novo, in particolare a carico della metilasi Dnmt3a; queste metilazioni sono implicate nella plasticità neuronale e comportamentale della prole. In particolar modo la prole che ha ricevuto cure parentali di elevata qualità ha un'espressione elevata di Dnmt3a nel cervello rispetto a quanto accade nel cervello di prole orfana. Al contrario prole di padri che hanno fornito un basso livello di cura ha invece un livello di espressione di Dnmt3a nel cervello più bassa rispetto alla prole orfana [23].

È quindi definito il legame tra la demetilasi e le cure paterne, non è però ancora stata chiarita la correlazione molecolare tra queste metilazioni e il comportamento di ansia nella prole, poiché ancora non si conoscono i geni affetti dalle stesse e se questi siano espressi o meno nel cervello del giovanile. Un'altra ipotesi da testare

è che le modificazioni nell'epigenoma non siano causate dalle cure parentali ricevute dopo la schiusa delle uova, quanto più da quelle atte a garantire la loro ossigenazione prima della schiusa, quindi dall'efficacia dell'ossigenazione [23]. In ultimo luogo è importante chiarire la correlazione tra il livello di ansia nel giovanile e la capacità di sopravvivenza, scopo ultimo delle cure parentali. Paragonando i giovanili con un elevato stato di ansia rispetto a giovanili che avevano ricevuto un livello di cura normale è stato osservato un maggiore tasso di predazione nei primi rispetto ai secondi. Ciò sottolinea la correlazione tra ansia e sopravvivenza e ribadisce ancora l'importanza assunta dalle cure parentali nei confronti della sopravvivenza della prole [23].

Roditori

Gli studi a riguardo delle influenze delle cure parentali maschili sull'epigenoma della prole sono ad uno stadio più avanzato per quanto riguarda i mammiferi rispetto ai pesci, in particolare utilizzando dei roditori come organismo modello, nonostante siano ancora presenti molti punti da chiarire ed approfondire. Le cure parentali ricevute dall'individuo subito dopo la nascita sono primariamente da parte della madre, nonostante ciò ci sono evidenze che anche il padre sia responsabile dello sviluppo della prole, con cure dirette se presenti, oppure persino in assenza di contatto per quanto riguarda effetti indotti dall'ambiente. Il padre inoltre può avere anche un ulteriore ruolo indiretto nelle cure modellando la qualità delle interazioni tra la prole e la madre [24].

Nei mammiferi, le cure parentali arrivano principalmente dalla madre, per poter osservare l'impatto delle cure maschili sull'epigenoma della prole si è dovuto utilizzare organismi modello appartenenti all'ordine dei roditori che mostrassero cure biparentali. La scelta è caduta sulle seguenti specie: topi della California (*Peromyscus californicus*), arvicole della prateria (*Microtus ochrogaster*), arvicole mandarinate (*Lasiopodomys mandarinus*), criceti Djungarian (*Phodopus sungorus*), gerbilli della Mongolia (*Meriones unguulaticus*) e degus (*Octodon degus*) nelle quali si è rivelata chiara la responsabilità anche paterna nel modellare lo sviluppo del cervello della prole nel corso della crescita. In queste specie anche il padre è responsabile delle cure in modo analogo alla madre, eccezion fatta per l'allattamento [24]. Infatti, in individui che non hanno ricevuto cure parentali

paterne si osservano delle modificazioni neurobiologiche che terminano in un minore riconoscimento sociale, uno sviluppo alterato del comportamento di gioco, comportamenti di ansia accentuati e difficoltà nel formare le coppie. Osservando specificatamente queste modificazioni, tra esse si riconoscono variazioni sesso-dipendenti nell'espressione genica del recettore della dopamina nel nucleus accumbens, ossia una regione del prosencefalo coinvolta nell'interfaccia tra azione e motivazione e coinvolta nei comportamenti legati a alimentazione, sessualità, ricompensa e stress [25]. Altre modificazioni coinvolgono riduzione di numero dei recettori per l'ossitocina e dei livelli di ERalpha (estrogen receptor alpha), alterato sviluppo delle vie neuroendocrine coinvolte nella risposta allo stress e ridotta complessità neurale. In alcune specie come il topo della California la carenza di cure paterne risulta in una minore capacità di memoria e apprendimento, maggiori indici di comportamento ansioso e un alterato sviluppo sinaptico [4].

Le influenze da parte del padre sull'epigenetica della prole sono state però osservate anche in specie come *Mus musculus* in cui il padre non ha alcun ruolo nella sua crescita, dimostrando quindi che è presente un'ereditarietà delle modificazioni epigenetiche causate da stress ambientali e che le stesse hanno effetti sul fenotipo della prole di chi subisce le situazioni di stress. In particolare si è osservato avere conseguenze sull'epigenoma l'esposizione del padre a farmaci e tossine ed il suo stato nutrizionale, ciò ha un diretto effetto nel cervello, nel comportamento e nello sviluppo della prole [24].

Un'altra modalità con cui il padre è in grado di modificare l'epigenoma dell'ospite è tramite la madre, esso infatti può modellare la qualità delle interazioni tra madre e prole, agendo quindi indirettamente sull'epigenoma e sullo sviluppo [24]. Il comportamento della madre nei confronti della prole viene effettivamente modellato dalla qualità del maschio secondo due strategie opposte: allocazione differenziale o compensazione riproduttiva [24]. L'allocazione differenziale prevede una diretta correlazione tra qualità del maschio e investimento riproduttivo della femmina nei confronti della prole. L'ipotesi della compensazione riproduttiva invece ha una logica opposta di proporzionalità inversa, secondo la quale la femmina compensa l'eventuale scarsa qualità del

maschio aumentando il proprio investimento riproduttivo per compensare a tratti sfavorevoli che la prole potrebbe aver ereditato. Entrambe le ipotesi si sono verificate valide in diversi taxa e la qualità del maschio viene determinata dalla femmina sulla base dei caratteri sessuali secondari, ossia l'insieme dei caratteri fenotipici sesso-specifici non coinvolti direttamente nell'atto riproduttivo [24] [26].

Si può quindi dividere l'argomento delle cure paterne in questi organismi in cure dirette e indirette, investimenti diretti o indiretti per la sopravvivenza e lo sviluppo della prole. Per cure dirette si intendono ad esempio nutrimento, riconduzione dei cuccioli al nido, mantenimento della temperatura accovacciandosi in prossimità, gioco e toelettatura. Trovare le risorse per il nutrimento, costruire il nido e difendere il territorio invece vengono annoverati come comportamenti di cura indiretta. Nelle specie di roditori biparentali si è visto che nella loro essenzialità, ad eccezione dell'allattamento, le cure messe in pratica dalla madre o dal padre non erano dissimili, variava però il modo in cui venivano messe in pratica, in particolare quelle esercitate dal padre sembravano stimolare maggiormente le abilità sociali della prole. In compresenza però i due genitori sembrano mostrare stili di genitorialità complementari, stimolandosi a vicenda [24].

2.4 Differenze tra cure parentali materne e paterne sull'epigenetica

Riepilogando, negli animali le cure parentali femminili sono molto più diffuse rispetto a quelle maschili, soprattutto nei mammiferi, ordine che interessa la stragrande maggioranza degli studi in merito. Ne deriva quindi che è molto più ampio il settore della ricerca che riguarda le cure parentali femminili rispetto a quelle maschili. La principale differenza che si riesce però ad apprezzare è il fatto che siano i rapporti della prole con la figura materna quelli che hanno i maggiori risultati sull'epigenoma dei figli e che la plasmabilità di quest'ultimo da parte della relazione con la madre sia poi sfruttata dal padre. Esso infatti può avere un'influenza sul tipo di cure che la madre offrirà alla prole modellando quindi indirettamente l'epigenoma.

Capitolo 3: Effetti delle cure parentali sull'epigenoma del genitore

Finora è stato osservato l'effetto che le cure parentali esercitano sullo sviluppo del cervello nella prole, ma il prendersi cura di un organismo giovane ha profondi effetti anche sull'individuo che esercita le cure, in particolare sulla madre. La relazione con un giovanile infatti modifica profondamente la fisiologia della madre sia grazie a una differente produzione ormonale, sia grazie a meccanismi epigenetici. Gli studi a questo proposito sono stati effettuati in topo, *Mus musculus*, indagando i meccanismi che portano un esemplare senza figli dall'evitare i cuccioli, finanche talvolta ad ucciderli, all'iniziare ad essere attratti e prendersi cura di loro, riducendo addirittura la propria fitness. Questa programmazione riguarda il gene *Esr1* (il quale codifica per il recettore per gli estrogeni 1) ed inizia nelle femmine di topo già in età precoce grazie al comportamento di leccatura esercitato dalla madre. L'effetto su questo gene è quello di ridurre la metilazione del DNA nel promotore di *Esr1* consentendo quindi un aumento della sua espressione se indotta dall'estradiolo. Questo meccanismo risulta avere effetti in età adulta, in quanto permette una successiva espressione del recettore dell'ossitocina quando l'individuo femminile diventa madre. Oltre a ciò questo meccanismo è anche in grado di modellare il comportamento della madre da adulta in quanto rafforza le cure di leccatura nei confronti della prole. In un individuo adulto genitore *Esr1* viene trascritto e tradotto in grande quantità, principalmente nell'area preottica mediale dell'ipotalamo, e media sia l'inizio dell'assistenza materna che il suo sostenimento per il tempo necessario. Tuttavia i meccanismi attraverso cui ciò avviene non sono ancora noti nella loro interezza, sicuramente questi processi sono accompagnati da altre cascate molecolari innescate da ormoni che collaborano a rendere l'individuo ricettivo ai cuccioli e pronto a offrire dei comportamenti di cura [27]. Un altro fattore che sembra essere in grado di mediare le modificazioni epigenetiche di acetilazione degli istoni in modo dipendente dall'esperienza nell'area preottica mediale, in modo analogo a quanto succede con *Esr1*, è CREB. Si tratta di un fattore di trascrizione cellulare che si lega a elementi di risposta al cAMP nel DNA regolando la trascrizione di geni a valle. CREB può essere attivato grazie alla stimolazione del recettore degli estrogeni nel caso questa avvenga in seguito all'esposizione ai cuccioli, mediata dalle MAP chinasi. L'effetto finale di CREB e del recettore degli estrogeni sulla trascrizione genica ricade su geni coinvolti nella

regolazione dell'assistenza materna. L'esperienza ripetuta di esposizione ai cuccioli stabilizza quindi le risposte di cura nei loro confronti aumentando la probabilità di attivare un circuito neurale di avvicinamento. Avviene però anche un altro tipo di percorso neurale, opposto ma nella stessa direzione, ossia viene diminuita la probabilità che i cuccioli scatenino nell'individuo femminile adulto un percorso neurale di paura o difensivo. Ciò che quindi si verifica è probabilmente un doppio effetto di sovraregolazione dei circuiti materni e sottoregolazione dei circuiti che portano all'evitare i cuccioli [27].

Capitolo 4: Inizio degli studi su primati e uomo

Gli effetti delle cure parentali sullo sviluppo della prole sono conosciuti anche per quanto riguarda organismi appartenenti ai primati o alla specie umana, essi sembrano ricondurre a pathway molecolari che vanno ad impattare e modificare l'epigenoma della prole, tuttavia questo tipo di cascate non è ancora conosciuto nella loro interezza. È quindi possibile ipotizzare dei rapporti di causa effetto tra la qualità delle cure ricevute in tenera età e attitudini e comportamenti esibiti in età adulta, senza avere ancora la conoscenza esatta di ciò che avviene a livello di epigenoma. Anche nelle relazioni tra prole e genitore presenti in queste specie è però opportuno specificare che a rivelarsi primaria nel determinare la qualità della cura è spesso la relazione che viene instaurata con la madre rispetto a quella instaurata con il padre.

4.1 Primati

Tra i primati non umani è stata investigata soprattutto l'importanza della relazione con la madre e gli effetti neurobiologici sulla prole dell'essere rifiutati o del subire comportamenti abusivi da essa. Per osservare queste dinamiche sono stati prelevati dalle madri degli esemplari giovani di macachi rhesus (*Macaca mulatta*) e allevati artificialmente, osservando sia quello che accade in assenza di un ambiente sociale giovanile, sia nel caso siano presenti solo coetanei e non la madre. Gli effetti sui cuccioli allevati in assenza di contatti sono stati un'interruzione del comportamento sociale, iperattività e sensibilità acuita ai fattori di stress. Per quanto riguarda invece i giovanili circondati solamente da coetanei, essi hanno sviluppato discontinuità nei comportamenti, nelle risposte

neuroendocrine e nello sviluppo del cervello. Lo studio è poi proseguito verificando gli effetti di una variazione nel tempo dedicato dalla madre nel fornire nutrimento al cucciolo, se esso risulta essere basso la madre presenterà una scarsa abilità nel recepire i segnali della prole e determinerà a cascata comportamenti di tipo ansioso, ridotte abilità sociali, interruzioni dello sviluppo e delle funzioni dell'ippocampo nei figli. In questa specie comportamenti di tipo abusivo della madre nei confronti dei figli avvengono con una frequenza che va dal 2% al 10% e possono terminare con un rigetto del cucciolo da parte della madre. È stato quindi possibile studiare anche le ripercussioni che ciò ha sullo sviluppo della prole che li subisce, osservando come loro conseguenza un ritardo nell'inizio del gioco sociale e una maggiore aggressività nei nuovi ambienti [4].

Nei mammiferi le cure parentali sono generalmente svolte dalla madre e così avviene anche nei primati, sono quindi rari gli esempi di effetti epigenetici nella prole scatenati dalle cure paterne. Uno di questi rari esempi è stato ritrovato nelle bertucce (*Callithrix jacchus*), infatti in questa specie i piccoli allevati in assenza del padre presentano un aumento del comportamento ansioso e una maggiore reattività dell'asse HPA, ciò suggerisce un'analogia nell'impatto sullo sviluppo della prole di una ridotta assistenza materna e paterna [28].

In natura le varie specie di primati non presentano tutti la stessa frequenza di contatto tra la madre e la prole e quindi la variazione di frequenza, verso un lato o verso quello opposto, risulta avere effetti diversi. Resta però pressoché costante tra le specie la correlazione tra comportamenti di iperprotettività genitoriale e la ridotta propensione all'esplorazione di un nuovo ambiente; al contrario il rigetto da parte dei genitori sembra risultare nella prole in elevate risposte di cortisolo indotte dallo stress che permangono anche in età adulta [4].

4.2 Uomo

Nella specie umana l'influenza che hanno le cure parentali durante il primo sviluppo è conosciuta universalmente; infatti vengono comunemente associate situazioni di assenza o disturbo del legame genitore-figlio a disagi di tipo psicologico o addirittura psicopatologie. Quando vengono analizzate le cure parentali in uomo si dividono gli atteggiamenti in comportamenti di cura e

comportamenti di disturbo. Analizzando i comportamenti di cura ci si focalizza su qualità dell'attaccamento, sensibilità ai segnali del bambino, legame tra genitore e figlio e sincronia delle interazioni. Per quanto riguarda i comportamenti di tipo abusivo invece si studia l'assenza dei genitori, la negligenza e le cure abusive. I comportamenti di cura positiva, come l'attaccamento alla madre, possono avere effetti diversi sullo sviluppo dei figli a seconda che si verifichi un attaccamento di tipo sicuro o invece disorganizzato. Nel caso di un attaccamento sicuro esso si rifletterà in una maggiore resilienza al disagio psicologico, dall'altro lato un attaccamento disorganizzato può risultare in una maggiore probabilità di incidenza di psicopatologie, come ad esempio disturbi della personalità, dissociazione, autolesionismo e una maggiore reattività della risposta dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene allo stress. Limitandosi a guardare gli effetti di una variazione dei comportamenti di cura genitoriale appartenenti alla gamma normale è visibile un impatto significativo sugli esiti neurocomportamentali della prole. Ad esempio una tipologia di cura iperprotettiva potrà risultare in una depressione in età avanzata, in cambiamenti nel volume della materia grigia nella corteccia prefrontale e nell'ippocampo e variazioni nella risposta dopaminergica e del cortisolo allo stress. Subire comportamenti di cura infantile che sono caratterizzati da episodi di negligenza e abuso rivelano una disregolazione dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene e quindi prestazioni cognitive ridotte in età adulta, uno sviluppo sociale compromesso e un aumento dei disturbi della personalità. Sono visibili ritardi nello sviluppo, compromissione del funzionamento esecutivo, aumento dei comportamenti di tipo autistico e della risposta allo stress tramite cortisolo. Nel cervello questo si rivela in una corteccia prefrontale mediale di dimensioni ridotte e alterazioni del volume e nella risposta ai segnali in amigdala e ippocampo. In particolare vi è una risposta accentuata in queste due ultime aree cerebrali a segnali di tipo minaccioso con alterazione o cessazione conseguente delle interazioni sociali. Le prime esperienze di vita sono quindi fondamentali indicazioni per lo sviluppo neurobiologico e comportamentale dell'individuo e i loro effetti non sono limitati al periodo infantile ma permangono per tutta la vita dell'individuo [4].

Conclusioni

In questo scritto si è cercato di riportare gli studi più recenti sugli effetti esercitati dalle cure parentali in termini di modificazioni epigenetiche, un ambito nuovo nel campo delle cure parentali, e vedere come esse impattino sullo sviluppo e sull'intera vita della prole. Il presupposto fondamentale per eseguire uno studio di questo tipo e con questo taglio è sicuramente conoscere l'epigenetica e il tipo di cure eseguite dalle diverse specie, relazionandole poi tra loro. Per affrontare il tema è stato deciso di prendere in esame sia le cure ricevute durante lo stadio prenatale che dopo la nascita in varie specie di organismi modello, per concludere infine con un breve paragrafo su primati e uomo.

Una caratteristica sicuramente rilevante è la distinzione tra le modalità in cui le modificazioni vengono indotte dalla madre e/o dal padre. Si nota infatti che la madre causa una modifica dell'epigenoma della prole in modo diretto grazie alle cure che essa stessa somministra, il padre invece nel regno animale è responsabile delle cure in una percentuale più ridotta rispetto alla madre, quindi le cure paterne causeranno sia modificazioni in modo diretto, sia indiretto regolando il comportamento di cura della madre. Risulta dunque essere importante eseguire una distinzione tra gli effetti causati dalle cure maschili e femminili e osservare in modo distinto le vie tramite le quali esse operano risultando in modificazioni dell'epigenoma. Le cure parentali inoltre non causano modifiche solo sull'epigenoma della prole ma anche in quello del genitore, che deve essere predisposto ad iniziare e portare avanti i comportamenti di cura.

La limitazione principale nell'eseguire uno studio di questo tipo è costituita sicuramente dal grado di avanzamento delle ricerche. Esse infatti risultano essere ad uno stadio più avanzato soprattutto per l'organismo modello topo, *Mus musculus*, mentre, in particolare per primati e uomo, esse risultano essere ancora ad uno stadio iniziale senza la conoscenza dei meccanismi molecolari ingaggiati, nonostante sia chiara la presenza di una dipendenza tra modificazioni epigenetiche e cure parentali ricevute. Al contempo ciò costituisce anche una grande opportunità per quanto riguarda le prospettive future, le quali risultano quindi ancora completamente inesplorate e possono rappresentare delle sfide molto

interessanti, i quali risultati potrebbero rivoluzionare tutte le discipline correlate allo sviluppo.

Le direzioni future verso le quali potrebbe proseguire la ricerca in quest'ambito sono numerose, soprattutto tenendo presente le innumerevoli lacune ancora ritrovabili sulle modalità attraverso le quali degli stimoli dati tramite le cure possono risultare in variazioni a livello di epigenoma, in particolare nella specie umana. È quindi necessario continuare la raccolta dei dati e lo studio sui meccanismi molecolari coinvolti. Ciò potrebbe avere riscontri anche allo scopo di migliorare la qualità della vita della nostra specie in modo da garantire un migliore sviluppo cerebrale, limitando al contempo l'insorgenza di psicopatologie, oppure per far fronte in maniera ottimale ai disagi causati da un pattern di cure deleterio. In particolare la conoscenza dei meccanismi molecolari potrebbe agevolare la produzione di farmaci adatti a questo scopo, è quindi necessaria la prosecuzione delle ricerche in merito.

Bibliografia

1. Clutton-Brock, T. H. (2019). The evolution of parental care. In *The Evolution of Parental Care*. Princeton University Press, capitolo 2
2. Duncan, EJ, Gluckman, PD, Dearden, PK. 2014. Epigenetics, plasticity and evolution: How do we link epigenetic change to phenotype? *J. Exp. Zool. (Mol. Dev. Evol.)* 322B: 208– 220.
3. Feil, R., Fraga, M. Epigenetics and the environment: emerging patterns and implications. *Nat Rev Genet* 13, 97–109 (2012).
<https://doi.org/10.1038/nrg3142>
4. Kundakovic, M., Champagne, F. Early-Life Experience, Epigenetics, and the Developing Brain. *Neuropsychopharmacol* 40, 141–153 (2015).
<https://doi.org/10.1038/npp.2014.140>
5. Bossdorf, O., Richards, C.L. and Pigliucci, M. (2008), Epigenetics for ecologists. *Ecology Letters*, 11: 106-115. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2007.01130.x>
6. Champagne, F.A. (2010), Epigenetic influence of social experiences across the lifespan. *Dev. Psychobiol.*, 52: 299-311.
<https://doi.org/10.1002/dev.20436>
7. Igor Branchi, The mouse communal nest: Investigating the epigenetic influences of the early social environment on brain and behavior development, *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, Volume 33, Issue 4, 2009, Pages 551-559, ISSN 0149-7634,
<https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2008.03.011>.
8. Smith, C. and Wootton, R.J. (1999), Parental energy expenditure of the male three-spined stickleback. *Journal of Fish Biology*, 54: 1132-1136.
<https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1999.tb00866.x>
9. Katie E. McGhee and Alison M. Bell, Paternal care in a fish: epigenetics and fitness enhancing effects on offspring anxiety,
<https://doi.org/10.1098/rspb.2014.1146>
10. Clutton-Brock, T. H. (2019). The evolution of parental care. In *The Evolution of Parental Care*. Princeton University Press, capitolo 7
11. Pressley, Peter H. “Parental Effort and the Evolution of Nest-Guarding Tactics in the Threespine Stickleback, *Gasterosteus Aculeatus* L.” *Evolution* 35, no. 2 (1981): 282–95. <https://doi.org/10.2307/2407838>.

12. Clutton-Brock, T. H. (2019). The evolution of parental care. In *The Evolution of Parental Care*. Princeton University Press, capitolo 8
13. Lonstein, Joseph & Fleming, Alison. (2002). Parental Behaviors in Rats and Mice. Current protocols in neuroscience / editorial board, Jacqueline N. Crawley ... [et al.]. Chapter 8. Unit 8.15.
10.1002/0471142301.ns0815s17.
14. Primati, Enciclopedia Treccani (agosto 2022)
15. Charles T. Snowdon Toni E. Ziegler, Growing Up Cooperatively: Family Processes and Infant Care in Marmosets and Tamarins
16. Cure parentali, Enciclopedia Treccani (agosto 2022)
17. Clutton-Brock, T. H. (2019). The evolution of parental care. In *The Evolution of Parental Care*. Princeton University Press, capitolo 8.1
18. Frances A. Champagne, Epigenetic mechanisms and the transgenerational effects of maternal care, *Frontiers in Neuroendocrinology*, Volume 29, Issue 3, 2008, Pages 386-397, ISSN 0091-3022,
<https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2008.03.003>.
19. Braun, K. and Champagne, F.A. (2014), Paternal Influences on Offspring Development: Behavioural and Epigenetic Pathways. *J Neuroendocrinol*, 26: 697-706. <https://doi.org/10.1111/jne.12174>
20. Moshe Szyf, The early life environment and the epigenome, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, Volume 1790, Issue 9, 2009, Pages 878-885, ISSN 0304-4165,
<https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2009.01.009>.
21. Clutton-Brock, T. H. (2019). The evolution of parental care. In *The Evolution of Parental Care*. Princeton University Press, capitolo 8.2.
22. Alison M Bell, Katie E McGhee, Laura R Stein, Effects of mothers' and fathers' experience with predation risk on the behavioral development of their offspring in threespined sticklebacks, *Current Opinion in Behavioral Sciences*, Volume 7, 2016, Pages 28-32, ISSN 2352-1546,
<https://doi.org/10.1016/j.cobeha.2015.10.011>.
23. Katie E. McGhee and Alison M. Bell (2014), Paternal care in a fish: epigenetics and fitness enhancing effects on offspring anxiety,
<https://doi.org/10.1098/rspb.2014.1146>

24. Braun, K. and Champagne, F.A. (2014), Paternal Influences on Offspring Development: Behavioural and Epigenetic Pathways. *J Neuroendocrinol*, 26: 697-706. <https://doi.org/10.1111/jne.12174>
25. Fernández-Espejo E. Cómo funciona el nucleus accumbens? [How does the nucleus accumbens function?]. *Rev Neurol*. 2000 May 1-15;30(9):845-9. Spanish. PMID: 10870199.
26. James P. Curley, Rahia Mashoodh, Frances A. Champagne, Epigenetics and the origins of paternal effects, *Hormones and Behavior*, Volume 59, Issue 3, 2011, Pages 306-314, ISSN 0018-506X, <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2010.06.018>.
27. Danielle S. Stolzenberg, Heather S. Mayer, Experience-dependent mechanisms in the regulation of parental care, *Frontiers in Neuroendocrinology*, Volume 54, 2019, 100745, ISSN 0091-3022, <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2019.04.002>.
28. Nick J. Royle, Per T. Smiseth, Mathias Kölliker, The Evolution of Parental Care, capitulo 17
29. Bell, Michael A., and Susan A. Foster. "Introduction to the evolutionary biology of the threespine stickleback." *The evolutionary biology of the threespine stickleback* (1994): 1-27.
30. Backström T, Winberg S. Central corticotropin releasing factor and social stress. *Front Neurosci*. 2013 Jul 9;7:117. doi: 10.3389/fnins.2013.00117.