

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PSICOLOGIA
ESCOLA DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DOUTORADO EM PSICOLOGIA

MATEUS LUZ LEVANDOWSKI

MAUS-TRATOS NA INFÂNCIA, ESTRESSE E ENVELHECIMENTO CELULAR

Porto Alegre
2018

PÓS-GRADUAÇÃO - *STRICTO SENSU*



Pontifícia Universidade Católica
do Rio Grande do Sul

Ficha Catalográfica

L655m Levandowski, Mateus Luz

Maus-Tratos na Infância, Estresse e Envelhecimento Celular /
Mateus Luz Levandowski . – 2018.

119 f.

Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Psicologia,
PUCRS.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Grassi-Oliveira.

1. Estresse precoce. 2. Abuso infantil. 3. Comprimento de telômeros.
4. Cortisol. 5. Longitudinal. I. Grassi-Oliveira, Rodrigo. II.
Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da PUCRS
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Bibliotecário responsável: Marcelo Votto Texeira CRB-10/1974

Mateus Luz Levandowski

Maus-Tratos na Infância, Estresse e Envelhecimento Celular

Tese apresentada como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Psicologia, à Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, no Programa de Pós-graduação em Psicologia.

Orientador: Dr. Rodrigo Grassi-Oliveira

Porto Alegre, 2018

Agradecimentos

Ao meu orientador e mentor, Prof. Rodrigo Grassi-Oliveira, por, desde 2012 ao ingressar no Mestrado, me acolher e depositar confiança no meu potencial. O Prof. Rodrigo é uma fonte de inspiração e aprendizado constante, é incansável em relação ao crescimento de seus alunos. Espero levar comigo este fascínio pela ciência durante minha trajetória profissional.

Aos meus colegas e amigos do *Developmental Cognitive Neuroscience Lab*, pela amizade e coleguismo durante estes últimos 6 anos. À Profa. Dra. Audrey Tyrka por ter me recebido tão bem no *Laboratory for Clinical Neuroscience* na *Brown University*. Agradeço também o empenho de toda a equipe de seu laboratório em tornar o estágio de doutorado sanduíche possível e muito produtivo. Agradeço, em especial, sua pós-doutoranda Kathryn Ridout, por me auxiliar em diversos projetos realizados durante o estágio.

Ao Prof. Dr. Giovanni Abrahão Salum Júnior, à Profa. Dra. Gisele Gus Manfro e a todos os membros e coordenadores do Instituto Nacional de Psiquiatria do Desenvolvimento para Crianças e Adolescentes (INPD) pela cooperação no estudo “Coorte de Escolares de Alto Risco para transtornos psiquiátricos na infância e adolescência: seguimentos de 3 e 6 anos” e também pela absoluta disponibilidade para ajudar que este projeto de Doutorado pudesse ocorrer.

Ao Programa de Pós-Graduação em Psicologia da PUCRS, pelo apoio e oportunidade em ter um ensino de qualidade. À CAPES, pela bolsa de doutorado e pela bolsa de doutorado sanduíche no exterior, que foi fundamental para meu aperfeiçoamento acadêmico.

À minha família, em especial à minha mãe Dora, pela compreensão nos momentos de ausência e pelo incentivo e suporte constante que foram o diferencial nestes últimos anos. À minha esposa Roberta, que além de todo companheirismo, incentivo e suporte, me ajudou de forma prática em diversos momentos desta tese.

À banca avaliadora pelo interesse e disponibilidade em avaliar esta tese. E por fim, dedico um especial agradecimento às pessoas que participaram deste estudo em prol do desenvolvimento científico sobre o impacto de situações adversas durante o desenvolvimento.

Sumário

1. Apresentação	06
2. Resumo	07
3. Abstract	08
4. Introdução	09
4.1 Maus-tratos na infância: o tamanho do problema	09
4.2 Maus-tratos na infância e risco para doença mental	11
4.3 Maus-tratos na infância e envelhecimento precoce	16
5. Artigo 1	19
6. Artigo 2	51
7. Considerações finais	83
Referências	86
Anexos	92

1. Apresentação

Este trabalho consiste na tese de doutorado intitulada “Maus-Tratos na Infância, Estresse e Envelhecimento”, apresentada ao Programa de Pós-graduação em Psicologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

A tese está organizada da seguinte maneira: o Resumo, a Introdução, um primeiro Artigo (meta-análise sobre os efeitos dos maus-tratos na infância no eixo HPA), um segundo Artigo (estudo empírico sobre a hipótese de envelhecimento acelerado relacionado a exposição de maus-tratos na infância) e uma sessão de Considerações Finais.

O estudo empírico apresentado nesta tese foi desenvolvido como parte de um projeto guarda-chuva intitulado “Coorte de Escolares de Alto Risco para transtornos psiquiátricos na infância e adolescência: seguimentos de 3 e 6 anos” vinculado ao Instituto Nacional de Psiquiatria do Desenvolvimento para Crianças e Adolescentes (INPD) (<http://inpd.org.br>), o qual tem como objetivo principal investigar a fisiopatologia dos transtornos mentais, utilizando informações ambientais, genéticas, cognitivas e de neuroimagem em uma grande coorte comunitária de crianças brasileiras. Nesse sentido, o estudo empírico dessa tese deriva da cooperação do Prof. Rodrigo Grassi-Oliveira com o INPD e com o *Laboratory for Clinical Neuroscience* na *Brown University* e buscou explorar, em um desenho longitudinal, a hipótese do envelhecimento celular acelerado em crianças que foram expostas a situações de estresse precoce, em especial maus-tratos na infância.

2. Resumo

Esse trabalho buscou compreender mecanismos biológicos da exposição aos maus-tratos na infância em dois artigos. O primeiro artigo é uma extensa meta-análise avaliando níveis basais e dinâmicos de cortisol em crianças e adultos que passaram por estresse precoce. Evidenciou-se que crianças durante a primeira infância exibem níveis basais de cortisol mais baixos e menor ativação do eixo HPA durante exposição ao estresse. Também foi verificado que indivíduos que compartilham o mesmo diagnóstico apresentaram diferentes níveis de cortisol se tiverem ou não sido expostos a maus-tratos durante a infância, revelando um ecofenótipo biológico nestes indivíduos. No segundo artigo foram avaliadas crianças e adolescentes em um estudo longitudinal para avaliar o impacto do estresse precoce em marcadores de envelhecimento celular. Foi encontrado que crianças expostas a maus-tratos apresentam maior número de problemas comportamentais, maior taxa de diagnóstico psiquiátrico e envelhecimento celular acelerado em comparação com crianças sem exposição traumática. O envelhecimento celular acelerado foi identificado através de importantes biomarcadores de envelhecimento, tais como comprimento de telômero, número de cópias de DNA mitocondrial e ND4, sendo o primeiro estudo com crianças a relacionar estas variáveis com a exposição traumática.

Palavras-Chave: estresse precoce, abuso infantil, comprimento de telômeros, cortisol, longitudinal.

Área conforme classificação CNPq: 7.07.00.00-1 – Psicologia.

Sub-área conforme classificação CNPq: 7.07.03.04/3– Psicobiologia; 7.07.06.00/0 – Psicologia Cognitiva; 7.07.03.02/7 - Processos Psico-Fisiológicos.

3. Abstract

We aimed this thesis to explore biological mechanisms of childhood maltreatment exposure in two articles. The first article is an extensive meta-analysis assessing basal and dynamic levels of cortisol in children and adults who have experienced early life stress. We found that children during early childhood exhibit lower basal cortisol levels and lower activation of the HPA axis during stress exposure. Also, we found a biological ecophenotype within individuals with mental disorder and history of childhood maltreatment. In the second article we evaluated children and adolescents in a longitudinal study to assess the impact of early life stress on biomarkers of cell aging. We found that children exposed to maltreatment presented a greater number of behavioral problems, a higher rate of psychiatric diagnosis and accelerated cellular aging compared to children without traumatic exposure. Accelerated cell aging was identified through Telomere Length, Mitochondrial DNA copy number and ND4, being the first study with children to report these variables in association with traumatic experiences.

Keywords: early life stress, child abuse, telomere length, cortisol, longitudinal.

4. Introdução

4.1 Maus-tratos na infância: O tamanho do problema

Os maus-tratos contra crianças constituem um fenômeno que é relatado desde o começo do registro histórico da humanidade, como casos de infanticídio, abandono, exposição e falta de atenção em diferentes sociedades antigas (Ten Bonsel, Rheinberger, & Radbill, 1997). Embora existam relatos históricos desde o início de registros escritos, e que diversos tratados modernos em pediatria tenham reconhecido que as pessoas que deveriam cuidar de crianças poderiam, por vezes, ser capazes de cometer algum abuso ou negligência, apenas em 1962 a comunidade científica internacional investiu em estudar os aspectos médicos e legais do problema do abuso e negligência contra a criança (Lynch, 1985).

Em 1962 foi publicado um artigo do autor Henry Kempe, onde cunhou o termo "síndrome da criança maltratada" ou no original "*battered child syndrome*" (Kempe, Silverman, Steele, Droegemueller, & Silver, 1962). Este trabalho seminal influenciou uma geração de pesquisadores a investigar casos de maus-tratos contra a criança. Este termo definido por Kempe visava caracterizar as manifestações clínicas de crianças pequenas que passaram especificamente por abuso físico (Krug, Dahlberg, Mercy, Zwi, & Lozano, 2002; Lynch, 1985). Passados quatro décadas de pesquisa nesta área, hoje existem evidências suficientes, e alarmantes, de que os maus-tratos contra criança são um problema ainda atual e global (Hillis, Mercy, Amobi, & Kress, 2016).

Toda a criança tem direito à saúde e a uma vida livre de violência. Neste sentido, entende-se por maus-tratos na infância qualquer ato de omissão ou comissão contra a integridade física ou emocional da criança. Estes atos referem-se ao abuso

físico, emocional, sexual e negligência emocional e física, bem como diversas formas de exploração em um contexto de um relacionamento de responsabilidade, confiança ou poder (De Bellis, 2001). Devido ao fato de que os maus-tratos ocorrem principalmente em um ambiente que deveria ser seguro para a criança, eles são consistentemente identificados como o maior antecedente de doença mental, ao contrário de outros tipos de estressores durante a infância, também prejudiciais, porém, com menor risco de desenvolvimento de problemas emocionais.

Isto faz sentido, já que as crianças são dependentes dos adultos à sua volta para sua sobrevivência, e eles podem suportar grandes dificuldades ao sentirem-se protegidas e cuidadas. Mas quando a dificuldade é o produto de seus cuidadores ou da ausência de seus cuidadores, o estressor tem maior potencial de prejuízos a longo prazo. Ainda, qualquer um destes tipos de maus-tratos citados são de origem e dinâmica complexa, geralmente ocorrendo de forma simultânea e ao lado de outros tipos de violência, como concomitante à violência doméstica (Dong et al., 2004; McLaughlin, Sheridan, & Lambert, 2014; Teicher, Samson, Anderson, & Ohashi, 2016).

Diversas definições, além da complexidade em se avaliar, tornam difíceis obter estimativas epidemiológicas precisas em relação à prevalência de maus-tratos na infância, porém, estudos sugerem que maus-tratos contra a criança podem variar de 13,8% até 42% da infância até os 18 anos (Dong et al., 2004). Embora este seja um problema de saúde pública global, fatores geográficos e econômicos são capazes de influenciar as variações nas estimativas de maus-tratos em todo o mundo. Recentemente publicamos uma meta-análise, onde mostramos que a renda per capita do país exerce influência nas estimativas de maus-tratos, sendo as estimativas brasileiras de maus-tratos maiores em comparação com outros países investigados (Viola et al., 2016). Outros fatores também aumentam a susceptibilidade a fatores de risco para maus-tratos

na infância. Estes fatores são melhor entendidos pela interação de diferentes características, bem descritas no modelo ecológico, tais como fatores de risco individuais, de relacionamento, comunitários e sociais (Cicchetti & Lynch, 1993).

As consequências da exposição aos maus-tratos incluem risco aumentado para um grande número de doenças físicas e mentais (Tyrka, Burgers, Philip, Price, & Carpenter, 2013). A violência contra criança é altamente preditora de envolvimento em uma série de comportamentos de risco (violência, tabagismo, obesidade, comportamentos sexuais de alto risco e consumo de álcool e drogas) que aumentam a chance para doenças e risco de morte, sendo o abuso sexual na infância responsável sozinho por 0.6% da carga global de doenças no mundo (DALY estimates; WHO, 2014). Obviamente, esta carga de doença provoca um alto custo financeiro a curto e longo prazo, como consultas em serviços de saúde, perda de produtividade no trabalho e despesas relacionadas à justiça. Por diversas questões metodológicas, é difícil avaliar o impacto econômico dos maus-tratos, porém um estudo identificou que, apenas considerando o ano de 2008, os Estados Unidos despenderam aproximadamente US\$ 124 bilhões especificamente para minimizar as consequências dos maus-tratos (Fang, Brown, Florence, & Mercy, 2012). Isto torna-se ainda mais trágico na medida em que os custos para medidas preventivas são menores que os gastos em reparação do problema, dificultando esforços de prevenção para enfrentar a alta prevalência de maus-tratos no mundo (Krug et al., 2002).

4.2 Maus-tratos na infância e risco para doença mental

Desde os primeiros estudos investigando trauma na infância e desfecho patológico na vida adulta, uma quantidade substancial de pesquisas foram realizadas para explorar as consequências de adversidades na infância na saúde do indivíduo

(Tyrka et al., 2013). De acordo com a vulnerabilidade biológica do cérebro em desenvolvimento, o estresse no início da vida sob a forma de negligência ou abuso aumentam o risco de transtornos mentais (De Bellis, 2001).

Os maus-tratos infantis foram associados à vulnerabilidade para o desenvolvimento de uma série de transtornos mentais, tais como depressão (OR 2.2), uso de substâncias (OR 2.3) e estresse pós-traumático (OR 4.4) (Teicher & Samson, 2013). Pode-se verificar que o impacto dos maus-tratos não é específico e a trajetória psicopatológica particular pode depender do tipo de estresse dos maus-tratos (Carr, Martins, Stingel, Lemgruber, & Juruena, 2013), da janela de desenvolvimento em que o estresse foi experienciado (Andersen & Teicher, 2008), bem como risco genético, epigenético e fatores de proteção (Palma-Gudiel & Fananas, 2017). Sendo assim, os maus-tratos na infância não devem apresentar uma associação direta com diagnósticos específicos mas, sim, o estresse crônico no início da vida altera aspectos centrais da função afetiva e cognitiva que é compartilhada por uma série de desfechos psiquiátricos (Lupien, Maheu, Tu, Fiocco, & Schramek, 2007).

Desta maneira, diversos sistemas neurobiológicos chave envolvidos em funções afetivas e cognitivas são alterados em resposta ao trauma na infância, podendo, assim, aumentar o risco para desfechos de saúde negativos (McLaughlin et al., 2014). O período de vida inicial envolve mudanças rápidas e de larga escala em vias neurais que regulam o comportamento. Antes do início das pesquisas em neurociências, Harry Harlow havia publicado um estudo comportamental no controverso artigo “The Nature of Love”, onde macacos criados com auxílio de uma “mãe substituta”, de pano e confortável para o filhote, era uma variável determinante no desenvolvimento de respostas afetivas positivas destes macacos (Harlow & Suomi, 1970). Com o avanço científico rápido das últimas décadas, estudos pré-clínicos com roedores e primatas não

humanos demonstram que o comportamento inicial de cuidado desempenha um papel crítico no desenvolvimento normal de circuitos cerebrais envolvidos na regulação bem sucedida do estresse. Em contra partida, a falta de cuidado resulta em mudanças duradouras nestes sistemas neurobiológicos de regulação do estresse, sensibilizando os caminhos neurais e desenvolvendo mais do que o necessário as regiões do cérebro envolvidas nas respostas a ansiedade e medo (McCrory, De Brito, & Viding, 2010).

A figura 1 ilustra, resumidamente, de maneira esquemática o complexo sistema neurobiológico de regulação do estresse afetado em decorrência ao trauma na infância. Em resposta à ameaça percebida, o organismo produz uma coordenada resposta envolvendo vários sistemas. Em curto prazo, esta resposta ao estresse é adaptativa, como a ativação do sistema metabólico para mobilizar energia armazenada através de aumentos nos níveis de glicose que são mediadas por glicocorticoides (Glaser & Kiecolt-Glaser, 2005; Lupien et al., 2007). Contudo, a ativação crônica da resposta ao estresse, que ocorre nas situações de traumáticas, pode ter deletérias consequências para este sistema (Glaser & Kiecolt-Glaser, 2005). Por exemplo, em roedores, a exposição de glicocorticoides provocou proliferação neuronal e crescimento dendrítico na amígdala, área fundamental de regulação de medo e ansiedade (McEwen, 2007). Assim, o estresse crônico, pode causar uma falha no eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA) e deixar de responder a novos estressores. A falta de produção de glicocorticoides em resposta ao estresse pode resultar em inflamação crônica, que é contra regulada pelos glicocorticoides, causando, em última instância, efeitos negativos ao desenvolvimento neuronal. Nesta perspectiva, estudos mostram que as alterações relacionadas a maus-tratos no sistema neuroendócrino, imunológico e nervoso central (estrutura ou função) estão relacionados com consequências funcionais para a emoção, cognição,

comportamento e saúde (Cicchetti & Toth, 1995; Dantzer, O'Connor, Freund, Johnson, & Kelley, 2008; Frodl & O'Keane, 2013; McEwen, 2007).

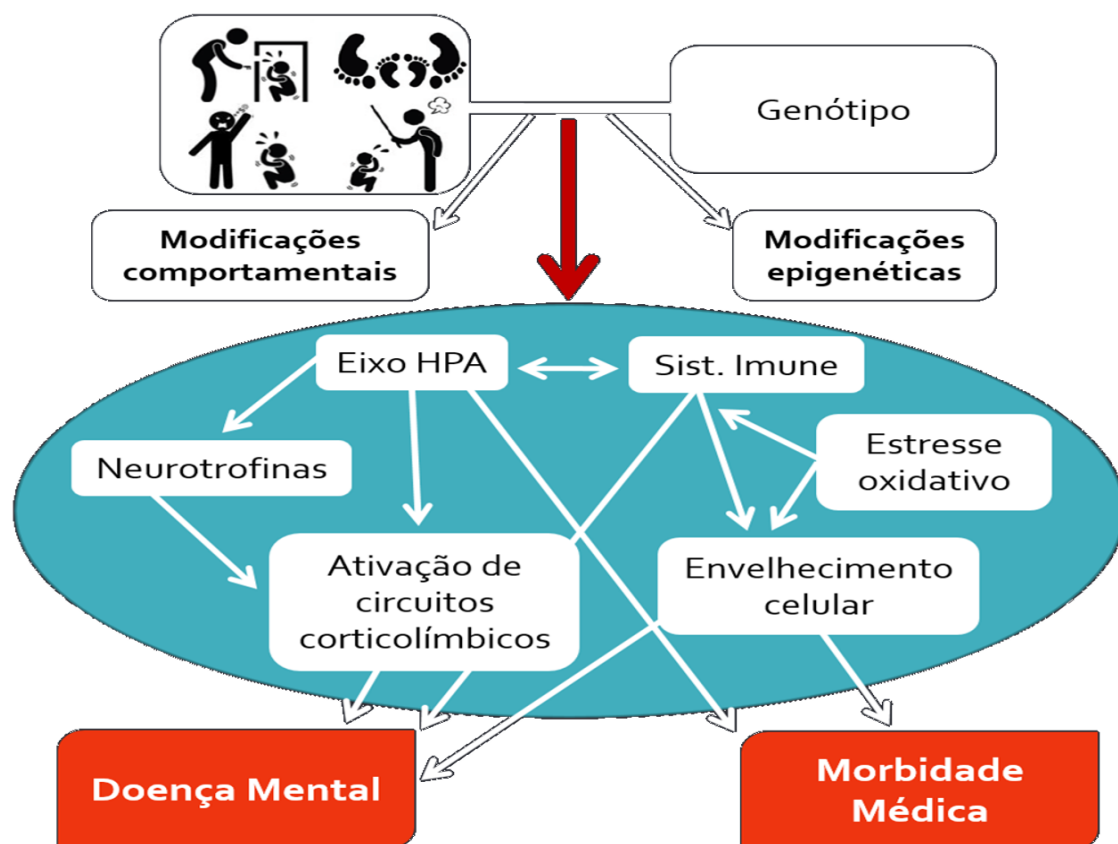


Figura 1. Efeitos neurobiológicos do trauma na infância, adaptada de Tyrka, 2013. O trauma na infância aumenta o risco de doenças através de um complexo sistema. O trauma pode afetar os sistemas endócrinos, produzindo uma reprogramação permanente do eixo HPA. A reprogramação do eixo HPA pode resultar em resposta inflamatória prolongada e neurotoxicidade, induzindo mudanças estruturais e funcionais no cérebro ainda em desenvolvimento. Além disso, fatores genéticos em interação com o estresse inicial podem mediar o mesmo sistema (nervoso, endócrino e imunológico) à superprodução de mediadores inflamatórios, contribuindo para a manutenção da HPA hiperatividade e neurotoxicidade no cérebro. Esses fatores podem moderar o comprometimento em regiões específicas do cérebro, incluindo regiões do córtex pré-frontal, diminuindo as estratégias de enfrentamento do indivíduo e diminuindo estratégias de enfrentamento frente o estresse.

Embora os maus-tratos na infância sejam um importante fator de risco para o desenvolvimento de transtornos mentais, também existem evidências que dão suporte a

hipótese de que os indivíduos que sofreram experiências adversas na infância apresentam características distintas do curso da doença quando comparadas a pessoas portadoras do mesmo transtorno, contudo sem o histórico de estresse no início da vida (Danese & McEwen, 2012; Teicher, Anderson, Ohashi, & Polcari, 2014). Esta observação levou Teicher e Samson a utilizar um termo que indica este fenômeno, chamado ecofenótipo. Este termo representa uma expressão fenotípica influenciada por uma exposição de maus tratos (Teicher & Samson, 2013). Assim, eles argumentam que indivíduos maltratados e não-maltratados com o mesmo diagnóstico têm fenótipos da doença diferentes. A Figura 2 ilustra de maneira esquemática a diferença entre indivíduos com o mesmo diagnóstico, porém, com desfechos clínicos diferentes segundo a teoria da carga alostática.

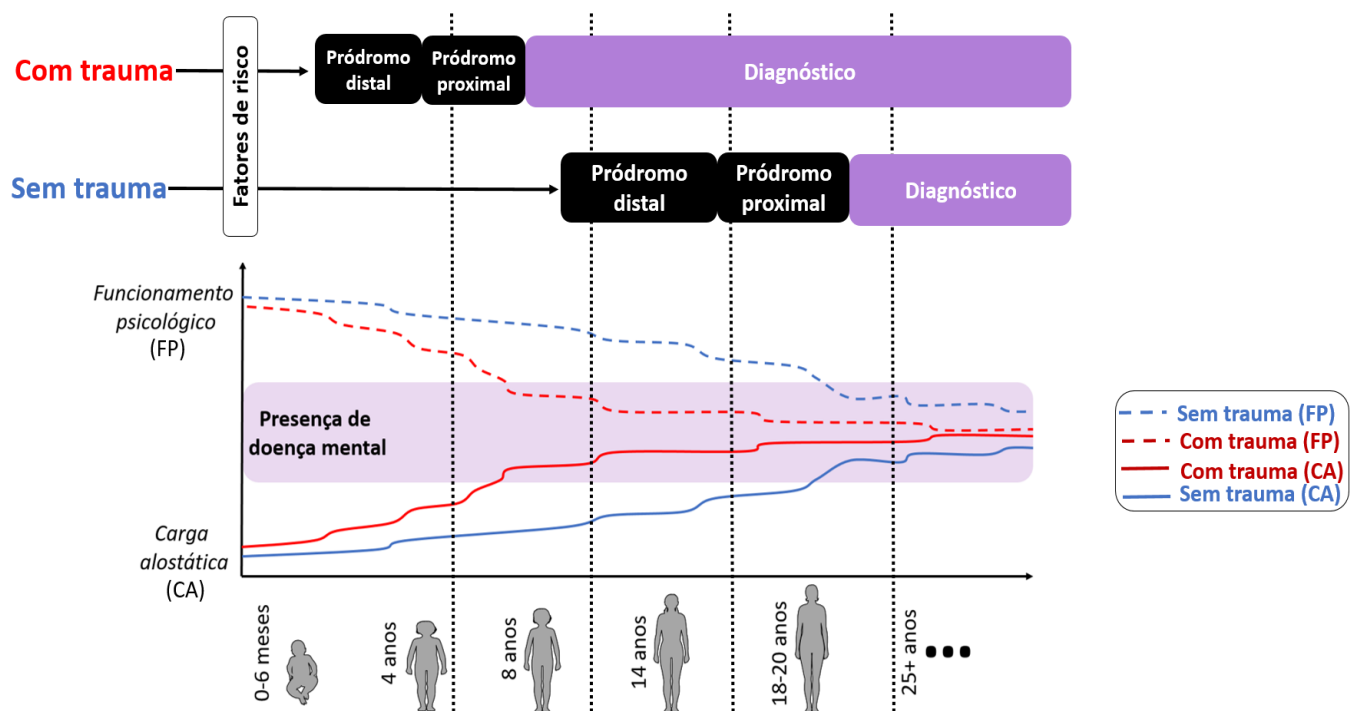


Figura 2. Adaptada e traduzida de Levandowski e Grassi-Oliveira (no prelo). Os maus-tratos infantis são fortemente ligados ao diagnóstico de doenças mentais. Além disso, o estresse precoce pode modular a expressão clínica do transtorno, aqui representada pelo pródromo distal, proximal e, conseqüentemente, pelo início precoce do diagnóstico. Independentemente da presença ou não do trauma da infância no início da vida, a expressão da doença é seguida por uma diminuição da função psicossocial e aumento da carga

alostática. Esse fenômeno começa na fase prodrômica até atingir o limiar para determinado transtorno. A diferença dessa trajetória entre a função psicossocial e a carga alostática é que os pacientes com história de maus-tratos na infância apresentam comprometimento precoce e rápido neste sistema. O trauma na infância tem efeitos em cascata na fisiologia do estresse e na função psicológica e social, que continuam acumulando carga alostática, mesmo quando não há mais estresse.

4.3 Maus-tratos na infância e envelhecimento precoce

Alterações no eixo HPA e no sistema imunológico resultante da exposição crônica ou precoce ao estresse pode levar a um encurtamento de telômeros, um marcador celular do envelhecimento que tem sido associado à morbidade e mortalidade em doenças cardiovasculares, diabetes e câncer, além de doenças psiquiátricas (Elissa S. Epel, 2009; Hoen et al., 2011; Price, Kao, Burgers, Carpenter, & Tyrka, 2013). Assim uma das hipóteses atuais é que os maus-tratos na infância provocam mudanças epigenéticas, como metilação de receptores de glicocorticóides, causando alteração na atividade do HPA e finalmente acelerando o envelhecimento celular, aumentando a chance para diversas doenças.

Os telômeros consistem em sequências de repetições de nucleotídeos e proteínas de ligação ao DNA, que protegem as extremidades dos cromossomos, sendo essenciais para a manutenção da estabilidade cromossômica e genética. Os telômeros encurtam em cada ciclo de replicação do DNA, sendo assim, um interessante biomarcador de envelhecimento biológico (Bernadotte, Mikhelson, & Spivak, 2016; Blackburn, 2010). Embora este processo seja natural, o comprimento de telômero (CT) pode também ser influenciado pelo estresse crônico (E. S. Epel et al., 2004; Tyrka et al., 2015).

Muitas doenças crônicas envolvem estados prolongados de estresse, o que pode contribuir para a associação entre CT e condições somáticas, incluindo doenças cardíacas, diabetes, asma e doenças neurodegenerativas (Gluckman & Hanson, 2004; Price et al., 2013; Zhao, Li, & Liu, 2017). Mecanismos propostos subjacentes à

associação entre o estresse e o CT incluem disfunção mitocondrial e inativação da telomerase devido à sinalização de estresse aumentada e prolongada (Ridout, Carpenter, & Tyrka, 2016). Além de refletir o estresse biológico, o desgaste dos telômeros geralmente precedem o desenvolvimento de doenças crônicas, sugerindo que a erosão dos telômeros pode ser um vínculo causal que liga a adversidade precoce e a doença ao longo da vida (Blackburn, Epel, & Lin, 2015).

Desta maneira, esta tese surge diante da complexidade dos resultados apresentados na literatura e do interesse crescente em descobrir mecanismos que medeiam os efeitos do trauma na infância e desfechos negativos ao longo da vida. Assim, esta tese visa investigar o envelhecimento celular como um mecanismo potencial entre a associação do estresse precoce e risco para doença mental. A figura 3 demonstra a hipótese de pesquisa desta tese.

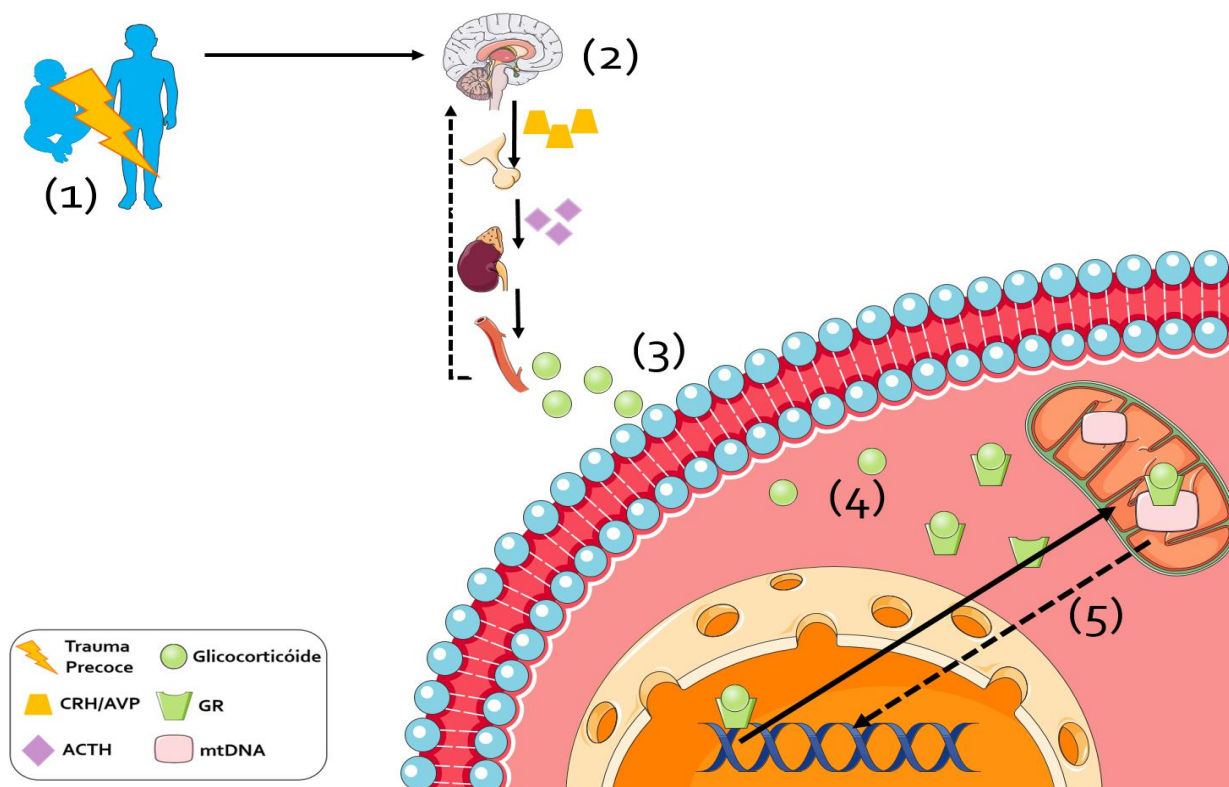


Figura 3. Modelo proposto. Trauma na infância (1) altera e reprograma o eixo HPA (2), alterando a sensibilização do feedback negativo e assim na produção de glicocorticóides (3). Os glicocorticóides uma vez no meio intracelular (4), ligam-se aos receptores de glicocorticóide, podendo se ligar no gene nuclear e no DNA da mitocôndria (5). Uma vez ligada, a sinalização de glicocorticóides pode aumentar a replicação

mitocondrial e danificar as mitocôndrias através da elevação dos níveis de glicose, promovendo a inflamação sistêmica, alterando a expressão gênica nas vias proapoptóticas, que finalmente precipita o processo de envelhecimento celular através do encurtamento de telômeros.

5. Estudio 1

**A meta-analysis of HPA axis in children and adults exposed to childhood
maltreatment**

Abstract

Objectives: Using meta-analytic techniques, we aimed to provide a quantitative synthesis of the available evidence on the role of childhood maltreatment (CM) exposure in the cortisol levels. **Methods:** Meta-analysis and meta-regression of case-control studies examining basal and dynamic cortisol levels. A comprehensive search was performed on April 15th, 2016 and updated on March 15th, 2017 of PubMed/MEDLINE, PsycINFO, and Web of Science. Multiple reviewers appraised studies for inclusion or exclusion using *a priori* criteria. Data was extracted into a structured form. **Results:** Specifically, children during early childhood exhibited lower cortisol basal levels and a blunted cortisol stress response. Neither adolescents nor adults had differences in cortisol levels. We only found differences in adults, when adults had current depression and post-traumatic stress disorder, with higher and lower cortisol levels respectively. We also found that individual that share the same diagnosis presented a different cortisol levels if they have or not been exposed to CM, that was the case for depression, substance abuse and psychotic patients. Finally, we found an interesting association with cortisol and resilient subjects, where the resilient subjects (individuals with CM history, but without mental disorders) have lower levels of cortisol comparing with depressive patients with CM history and higher levels of cortisol comparing with control subjects. However, the studies showed evidence for publication bias and mostly of them does not presented sufficient information for further analysis. **Conclusion:** Our study presents evidence that CM disrupts the stress response from an early age.

Key words: Cortisol; HPA axis; Meta-analysis; Childhood Maltreatment; Child Abuse.

1. INTRODUCTION

Since Sigmund Freud (*Studies on Hysteria*, 1895) and his theory about early trauma and later psychopathology, clinical and pre-clinical researchers have asked how deviations from the typical environment early in life may produce negative and long-lasting outcomes (Figure 1). One of these environmental deviations studied by current neuroscience research is the childhood maltreatment (CM) (Teicher et al., 2016). CM has been defined as sustained or repeated acts of commission or omission by parents or caregivers against their children (McLaughlin et al., 2014). These acts include physical or emotional neglect and physical, sexual or psychological abuse before the age of 18 years, reaching a prevalence rates to about 42% in retrospective studies (Dong et al., 2004).

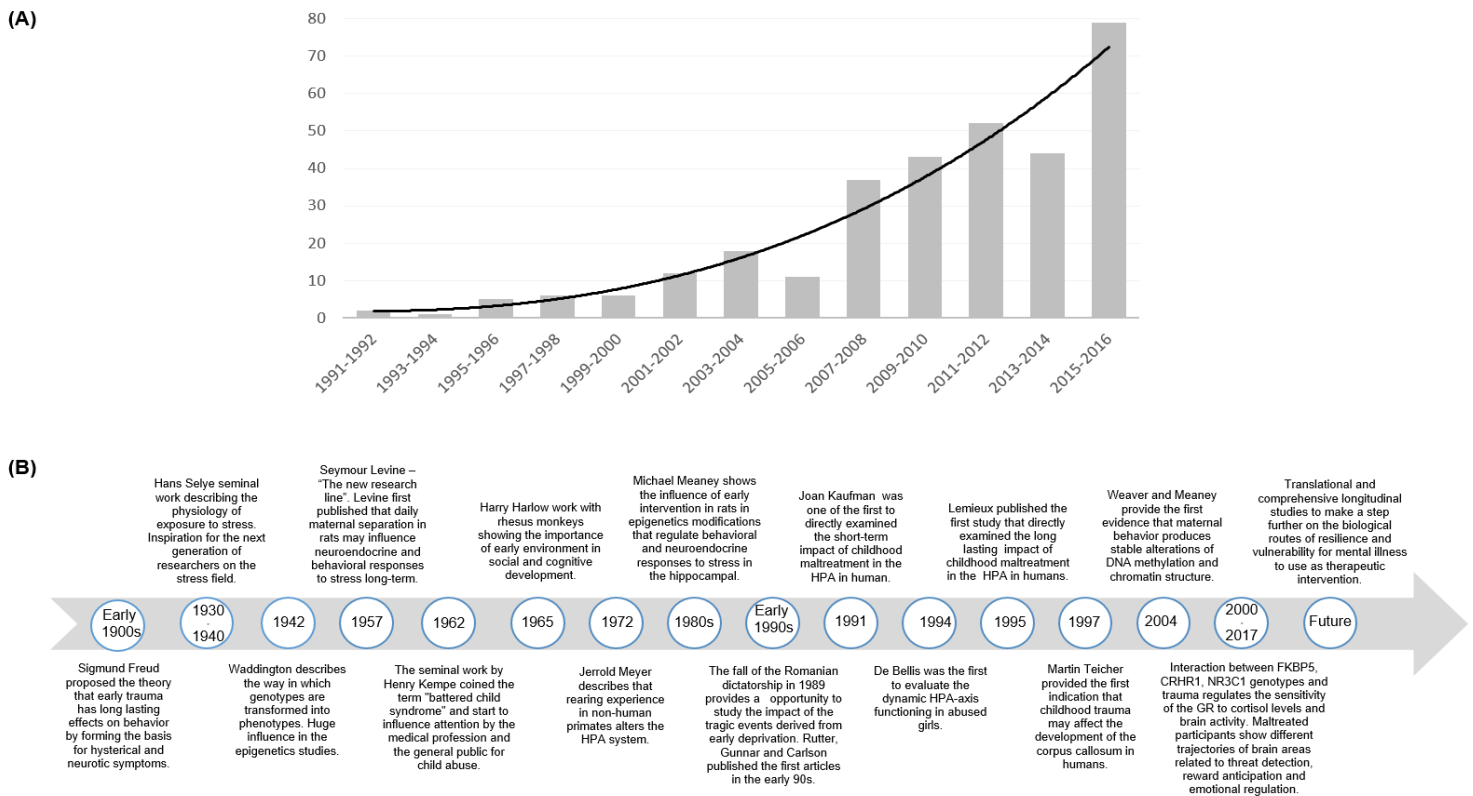


Figure 1.

(A) The number of articles published that evaluate cortisol and early life stress in humans since the first article published in 1991 to 2016.

(B) Timeline of important events that influence and contribute for the studies regard HPA axis and other neurobiological effects of early life stress.

Individuals with a history of early adversity are at a greater risk of developing poor physical and mental health outcomes (Tyrka et al., 2013), including depression, substance abuse, post-traumatic stress disorders (Teicher & Samson, 2013), diabetes, asthma and shortened life expectancy. For decades, developmental science has investigated the biologic mechanisms by which early adversity increases the risk for poor health outcomes (McEwen, 2007). These studies have been largely influenced by early works from Hans Selye (e.g., see Selye, 1956) regarding stress and increased activity of the hypothalamic–pituitary–adrenocortical (HPA) axis (Selye, 1985).

The HPA axis is considered the regulatory system for stress reactivity, an adaptive process when facing an environmental challenge. The HPA coordinates a series of hormonal events to “get ready to action” (fight or flight), and it is activated when receives interpreted information of threat, mainly of the hippocampus and

amygdala. As extensively reviewed (we suggested for revision: (De Bellis & Zisk, 2014; Heim, Newport, Mletzko, Miller, & Nemeroff, 2008; Tarullo & Gunnar, 2006; van Bodegom, Homberg, & Henckens, 2017), the HPA axis when responding to acute or chronic stress, start with the hypothalamus secretion of corticotropin-releasing hormone (CRH), which stimulates the anterior pituitary gland to release adrenocorticotrophic hormone (ACTH). ACTH, in turn, stimulates release of cortisol from the adrenal gland, resulting in behavioral and cognitive response to cope with the stressor. When the individual has coped the environmental challenge, the HPA response is terminated through a negative feedback loop, the cortisol inhibits the secretion of ACTH and CRH through the cortisol receptors in the hypothalamus and hippocampus.

Undoubtedly, this is an adaptive process, however when is chronic activated by childhood maltreatment, may produce a permanent reprogramming of the HPA axis (Weaver et al., 2004). The HPA axis, as the central nervous system, is not fully develop at birth and it is sensitive and responsive to stress and caregiving. Thus, an early impact into this system moves it from an protective to a damage process in the brain still in developing, inducing structural and functional consequences in brain areas sensitive to glucocorticoids, such as the prefrontal cortex, amygdala and hippocampus (Lupien, McEwen, Gunnar, & Heim, 2009). These structural and functional changes may contribute to deficits in appropriate feedback during stressful situations.

Accumulating evidence shows that individuals that suffered CM present dysregulation of the HPA system (Carrion et al., 2002; Hart, Gunnar, & Cicchetti, 1995; Tyrka et al., 2008). However, there is no consensus in which direction is this dysregulation of the HPA axis, with recent publications showing both hypo- and hyperactivity of the HPA-axis associated to CM. Indeed, back in 2006, Tarullo and Gunnar published a seminal review discussing that the developmental science has not

enough data available to know all particularities of how CM affects HPA axis to use it for target for treatments for example.

Several issues arise when assessing the existing body of knowledge relating cortisol and childhood maltreatment. Most studies have modest sample sizes, limiting the ability to draw definitive conclusions. Additionally, variability in studies, such as age, psychiatry diagnosis, sampling time, gender, type and timing of maltreatment and limits the generalizability of available data. This meta-analysis aims to clarify the relationship between childhood maltreatment and basal and dynamic cortisol levels by means of a systematic examination of the literature of studies that enroll subjects exposed to childhood maltreatment, measure cortisol levels, and provide enough data for us to compute effect sizes.

2. Methods and Materials

2.1 Protocol and Registration

We designed and conducted a systematic review and meta-analysis of studies that assessed cortisol in childhood maltreated individuals, in adherence with Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA) Statement and the Cochrane reporting items for meta-analyses. A protocol was registered with the International Prospective Register of Systematic Reviews (PROSPERO, CRD42016038112).

2.2 Search Strategy

The search was conducted using three electronic bibliographic databases, PubMed/Medline, PsycINFO, and Web of Science. The searches were run on April

15th, 2016 and updated on March 15th, 2017, no publication date limitations were set. The search was performed by two investigators with research experience (M.L.L., R.S.S.). Investigators reviewed titles, abstracts, and articles. The search strategy included controlled vocabulary (MeSH terms) and derivatives to identify childhood maltreatment and basal or dynamic cortisol studies. Supplemental Table 1 provides information regarding terms and tools used in each database. Furthermore, the reference lists of major studies and review article were hand-searched (M.L.L.) for additional relevant citations. All studies were appraised for inclusion or exclusion using a priori criteria as described below.

2.3 Study Eligibility

The following inclusion criteria were applied: (i) original and empirical article; (ii) human subjects; (iii) case-control studies investigating of the effects of early adversity in the form of abuse, neglect and deprivation; (iv) case-control studies examining basal cortisol or cortisol reactivity (pharmacological or psychological challenge); (v) provided sufficient data to calculate effect sizes. Studies using indirect proxies of neglect, such as parental education and parental depression, were excluded. We did not investigate other forms of stress during early development (e.g. bullying and parental loss), only cases of maltreatment. Studies were included if they had a control sample without childhood maltreatment history or if all groups were exposed to maltreatment, but the study focus was if psychiatric disorders mediate cortisol levels in maltreated individuals (see on data analysis). When two or more studies overlapped, as identified through crosschecking authors, publication year and sample location, the data from the study providing more sample details larger number of subjects was included,

while the other study was excluded. Disagreements during this process were settled by consensus with two senior investigators (R.G.O. and A.R.T).

2.4 Data Extraction

Two independent reviewers (M.L.L. and R.S.S) extracted, when available or applicable, the following data using a structured form: authors, publication year, article title, sample size, age, gender, trauma assessment (abuse, neglect and/or deprivation), trauma onset, time since trauma exposure, type of sampling fluid (saliva, serum, plasma, urine or hair), time of sampling (morning: 0700–1159 h; afternoon: 1200–0700 h; continuous: 12–24 h), assay (e.g. radioimmunoassay, Enzyme-linked Immuno-Sorbent Assay, high performance liquid chromatography), type of pharmacological (e.g. DST, Dex/CRHchallenge, L-5-HTP) and psychological challenge test (e.g., public speaking and cognitive task such as TSST) and cortisol data necessary to calculate effect size.

Effect size was preferential calculated based on cortisol means and standard deviation and reported as Cohen's *d*. Moreover, the effect size could be calculated if the study provided the stats of inferential statistics and the number of participants in each group using the effect size calculator. When studies presented more than two independent dataset (e.g., Trauma exposed and non-exposed in combination with or without psychiatry diagnosis, generating 4 possible groups) or reported multiple comparisons of cortisol values (e.g. both AM and PM time of sampling), both sets of data were included in order to increase information (see Data Analysis section). Extractors were not blinded to study results, authors, or institutions.

2.5 Data Analysis

Data were converted into standardized mean differences (SDM) using the effect size calculator and reported as Cohen's *d*. We use SDM on our analysis to reduce the impact of measurement differences related to sample and experiments conditions. The SMD is the mean difference in cortisol levels between the groups divided by the pooled standard deviation, resulting in a unitless effect size measure comparable between studies. If (T test) or F test (F test) were reported, they were converted to Cohen's *d*.

Supplemental figure 1 shows our plan analysis, explaining how we divided the studies. First division was for studies that we called "Basal HPA-axis functioning" or "Dynamic HPA-axis functioning using". In each study, we divided the studies in four potential categories: (1) Case-control design, studies that include individuals exposed to childhood maltreatment assessed or not for psychiatry diagnosis in comparison to non-exposed individuals (CM vs Controls); (2) Ecophenotype design: studies that include individuals with psychiatry diagnosis exposed to childhood maltreatment in comparison to individuals with same psychiatry diagnosis non-exposed individuals (Psyc-CM vs Psyc); (3) Resilience 1 design: studies that include individuals without psychiatry diagnosis exposed to childhood maltreatment in comparison to individuals with psychiatry diagnosis exposed to childhood maltreatment (No_Psy-CM vs Psy-CM).

(4) Resilience 2 design: studies that include individuals without psychiatry diagnosis exposed to childhood maltreatment in comparison to individuals without psychiatry diagnosis non-exposed (No_Psy-CM vs Controls).

Moreover, if was possible, we analyzed our categories based on developmental stage, diagnosis and time of sampling. Specifically for "Dynamic HPA-axis functioning using", we divided, if was possible, by psychosocial stressor and pharmacological stressors. For psychosocial stressor we analyzed separately, if was possible, the anticipation of the stressor (after participants facing the stressor), at cortisol peak

response (while coping with the stressor), in the recovery phase (after the participant debriefed) and AUC (area under the curve from beginning to the end of the stressor). Furthermore, for pharmacological challenges we analyzed separately, if possible, each type of challenge. If we did not have sufficient number of studies, we analyzed together.

Meta-regression were performed to examine potential sources of inter-study heterogeneity. Method of moments random-effects meta-regression was used for the moderators of source tissue, percent female, cortisol assay, study quality score and increased temporal proximity to adversity exposure.

Analyses were performed using Comprehensive Meta-Analysis Software (V2.2.064 Biostat, Englewood, New Jersey). Heterogeneity was calculated using the I^2 statistic. A random effects model was utilized after initial fixed effects model analyses revealed high inter-study heterogeneity. Publication bias was assessed with Egger's regression intercept. Duval and Tweedie's trim and fill analysis on both sides of the mean calculated effect size estimates accounting for reporting bias. Effect sizes, confidence intervals (CI; 95%) and p-values ($\alpha = .05$) were calculated and presented. By convention, effect sizes of 0.2, 0.5, and 0.8 are small, medium and large, respectively.

3. RESULTS

After initial search and screening, 95 studies met full inclusion criteria. Some of these included studies has 1 thru 4 different datasets, thus 139 datasets were included in meta-analysis (Supplemental Figure 2). Studies characteristics were shown in Supplemental table 2.

The overall association between early life adversity ($k = 41$) and cortisol levels as Cohen's d was -0.100 (95% CI, -0.23 to -0.03 , $p = 0.147$). Egger's regression suggested funnel plot asymmetry (Supplemental Figure 3; $B = 0.714$, 95% CI, -0.56 to 2.30 , $t = 1.21$, $p = .101$), suggesting reporting bias and/or heterogeneity between studies. Heterogeneity was detected in the primary meta-analysis ($I^2 = 43\%$); Thus, considering both high heterogeneity of the data and that the knowledge of all factor that could contribute for cortisol levels, we performed subgroup analysis as explaining in data analysis section.

3.1 Developmental timing, Time of Sampling, Psychiatry Diagnosis and Cortisol levels in Basal HPA-axis functioning

3.1.1 Developing timing

Developmental stages were defined using the Center for Disease Control (CDC) definitions and neurodevelopmental data available. Groupings were: early development, childhood, adolescence and adults. Larger negative effects were seen in studies with younger participants (Figure 2A).

The overall association between developmental timing and cortisol levels as Cohen's d was; -0.577 (95% CI, -1.07 to -0.07 , $p = .024$) for Early Childhood; -0.188 (95% CI, -0.38 to -0.00 , $p = .061$) for Middle Childhood; 0.020 (95% CI, -0.22 to 0.26 , $p = .686$) for Adolescence; and -0.105 (95% CI, -0.23 to 0.26 , $p = .116$) for Adulthood.

3.1.2 Time of Sampling

We investigated the impact of time of sampling in each developmental period, taking into account that the impact on cortisol was different in previously analysis. Here, the younger participants, morning samples had negative effect sizes of greater magnitude than afternoon.

3.1.2.1 Time of Sampling x Early Childhood

The association between Time of Sampling and cortisol levels (Figure 2B) as Cohen's d was; -0.658 (95% CI, -1.19 to -1.12, $p = .016$) for Morning samples; 0.426 (95% CI, 0.10 to 0.74, $p = .010$) for Afternoon samples; and -0.295 (95% CI, -0.55 to -0.03, $p = .027$) for Continuously samples.

3.1.2.2 Time of Sampling x Middle Childhood

The association between Time of Sampling and cortisol levels (Figure 2B) as Cohen's d was; -0.232 (95% CI, -0.46 to -0.00, $p = .049$) for Morning samples; 0.060 (95% CI, -0.24 to 0.36, $p = .695$) for Afternoon samples; and -0.112 (95% CI, -0.28 to 0.06, $p = .993$) for Continuously samples.

3.1.2.3 Time of Sampling x Adolescence

The association between Time of Sampling and cortisol levels (Figure 2B) as Cohen's d was; -0.054 (95% CI, -0.30 to 0.19, $p = .671$) for Morning samples; and 0.305 (95% CI, -0.11 to 0.72, $p = .157$) for Continuously samples.

3.1.2.4 Time of Sampling x Adulthood

The association between Time of Sampling and cortisol levels (Figure 2B) as Cohen's d was; 0.215 (95% CI, -0.88 to 0.51, $p = .165$) for awaking response; 0.117

(95% CI, -0.29 to 0.52, $p = .580$) for Morning samples; and -0.397 (95% CI, -0.92 to -0.12, $p = .137$) for Continuously samples.

3.1.3 Psychiatry Diagnosis

An extensive literature, especially related to MDD and PTSD, has shown different impact of these disorders on cortisol levels. Considering that some studies included has sample with psychiatry diagnoses, we included then in this step. We exclude all studies that not reported presence or not of mental illness and those studies which not ensure a sufficient number of studies (k) for each grouping. Moreover, CDC stages (children and adolescents) were further collapsed to ensure a sufficient number of studies. Overall, MDD has positive effect, while PTSD has negative effect on cortisol levels (Figure 2C).

3.1.3.1 Children and Adolescents x Diagnoses

The association between diagnosis and cortisol levels as Cohen's d was; -0.401 (95% CI, -0.71 to -0.08, $p = .012$) for internalize and externalize symptoms; 0.178 (95% CI, -0.25 to 0.61, $p = .421$) for MDD; and -0.007 (Figure 2; 95% CI, -0.48 to 0.46, $p = .976$) for PTSD.

3.1.3.2 Adults x Diagnoses

The association between diagnosis and cortisol levels as Cohen's d was; 0.373 (95% CI, 0.09 to 0.65, $p = .009$) for MDD; and -0.554 (95% CI, -0.85 to 0.25, $p < .001$) for PTSD.

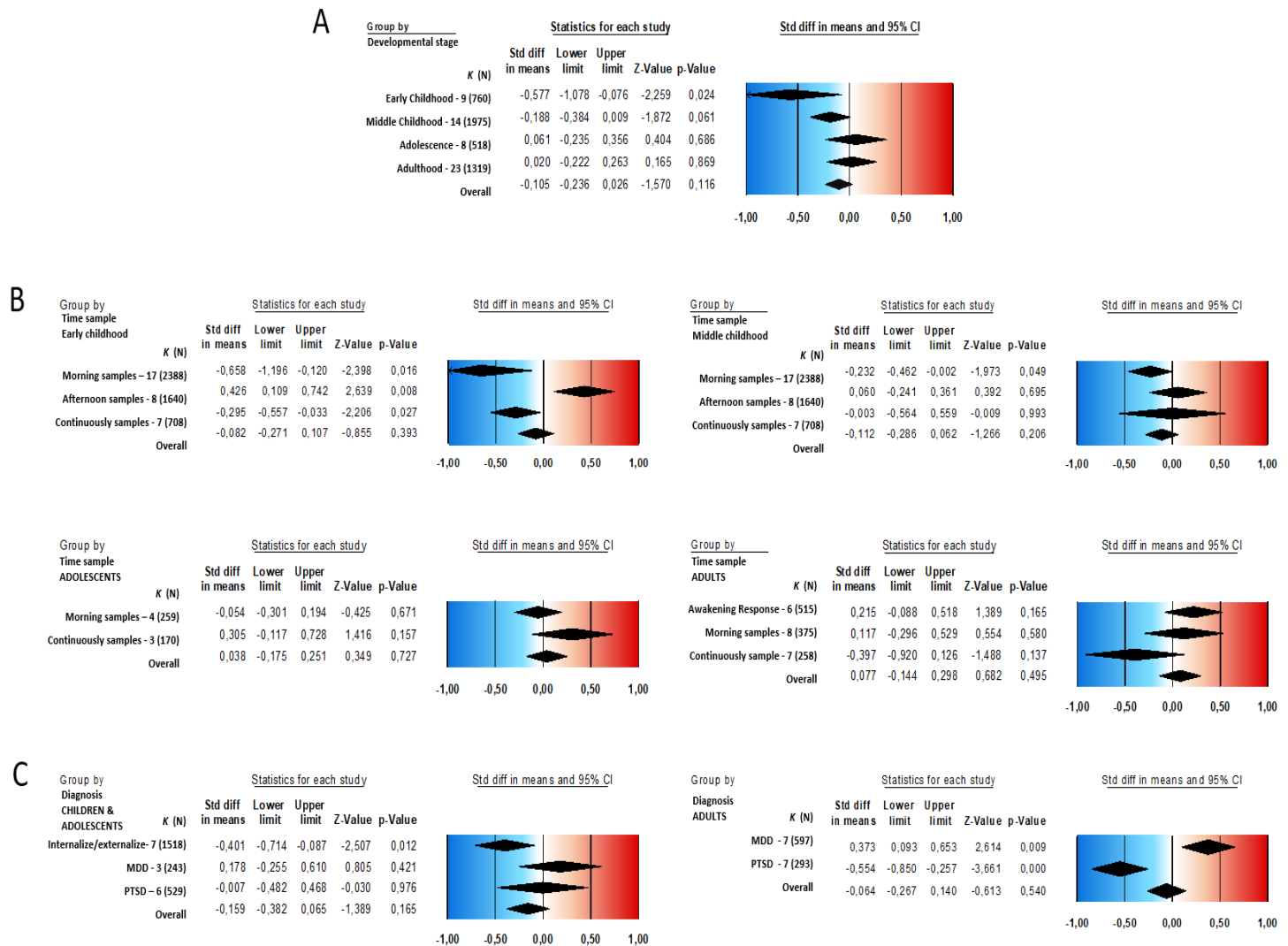


Figure 2

3.2 Ecophenotype and Cortisol levels in Basal HPA-axis functioning

Ecophenotype was defined by cases where the study has individuals with and without maltreatment who share the same mental disorder (Figure 3A).

The association between Ecophenotype and cortisol levels as Cohen's d was; 0.478 (95% CI, 0.00 to 0.95, $p = .049$) for MDD; 0.500 (95% CI, -0.01 to 1.01, $p = .057$) for SUD; and 0.526 (Figure 2; 95% CI, 0.10 to 0.94, $p = .014$) for psychotic patients.

3.3 Resilience and Cortisol levels in Basal HPA-axis functioning

3.3.1 Resilience I

The association between Resilience I and cortisol levels (Figure 3B) as Cohen's d was; -0.476 (95% CI, -0.68 to -0.26, $p < .001$) for Resilience vs MDD; and -0.265 (95% CI, -0.82 to 0.29, $p = .353$) for Resilience I vs PTSD.

3.3.2 Resilience II

The association between resilience II and cortisol levels (Figure 3B) as Cohen's d was 0.512 (95% CI, 0.29 to 0.73, $p < .001$).

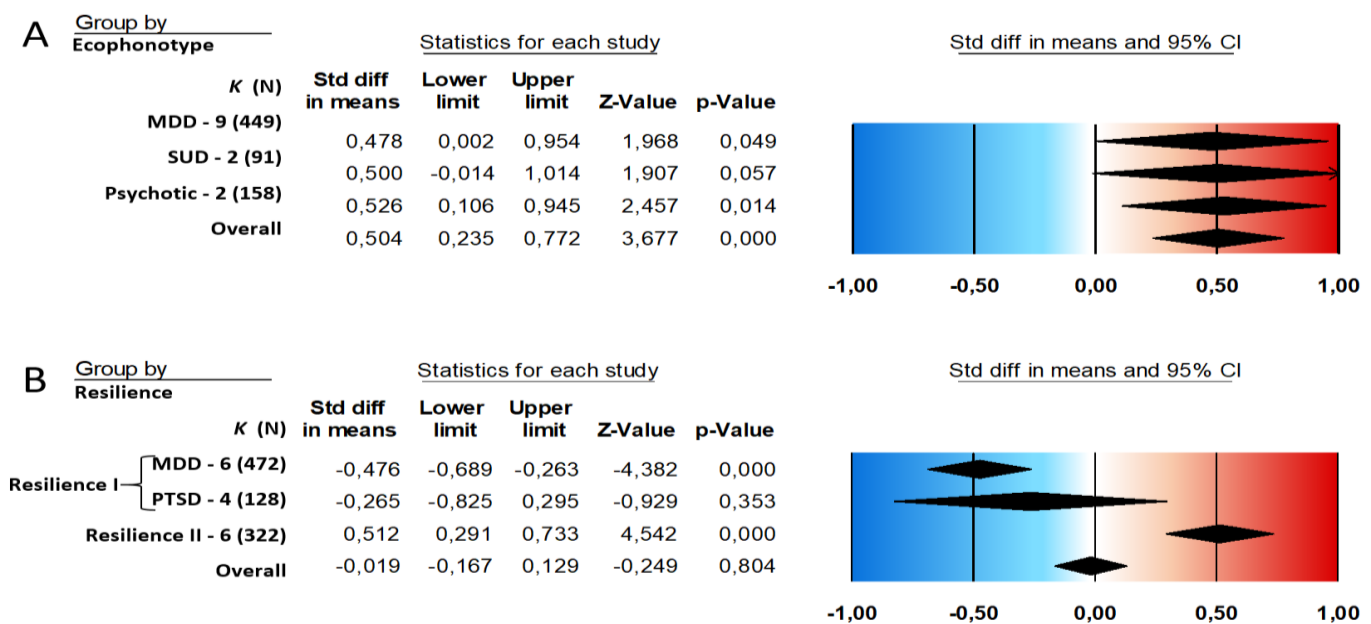


Figure 3

3.4 Developmental timing and Cortisol levels in Dynamic HPA-axis functioning

3.4.1 Children and adolescents

Psychological stressor (Supplemental Figure 3A): The overall association between developmental timing and cortisol levels as Cohen's *d* was; -0.294 (95% CI, -0.51 to -0.07, $p = .009$) for anticipation; -0.405 (95% CI, -0.86 to -0.05, $p = .086$) for stress; -0.569 (95% CI, -0.94 to -0.19, $p = .003$) for recovery; and -0.177 (95% CI, -0.47 to 0.12, $p = .249$) for AUC. Moreover, for pharmacological challenge association between developmental timing and cortisol levels as Cohen's *d* was 0.485 (95% CI, -0.14 to 1.11, $p = .131$).

3.4.2 Adults

Psychological stressor (Supplemental Figure 3B): The overall association between developmental timing and cortisol levels as Cohen's *d* was; 0.153 (Figure 2; 95% CI, -0.36 to 0.66, $p = .560$) for anticipation; -0.026 (Figure 2; 95% CI, -0.70 to 0.64, $p = .939$) for stress; -0.161 (Figure 2; 95% CI, -0.88 to 0.56, $p = .663$) for recovery; and -0.048 (Figure 2; 95% CI, -1.08 to 0.98, $p = .927$) for AUC. Moreover, for pharmacological challenge association between developmental timing and cortisol levels as Cohen's *d* was 0.678 (Figure 2; 95% CI, -0.71 to 2.06, $p = .339$).

3.5 Ecophenotype and Cortisol levels in Dynamic HPA-axis functioning

The association between Time of Sampling and cortisol levels (Supplemental Figure 4) as Cohen's *d* was; -0.294 (Figure 2; 95% CI, -0.61 to 0.02, $p = .073$) for psychological stress in MDD; 0.384 (Figure 2; 95% CI, 0.03 to 0.73, $p = .033$) for pharmacological stress in MDD; and -0.242 (Figure 2; 95% CI, -0.67 to 0.19, $p = .274$) for pharmacological stress in PTSD.

3.6 Resilience and Cortisol levels in Dynamic HPA-axis functioning

3.6.1 Resilience I

Psychological stressor (Supplemental Figure 5A): The overall association between resilience I and cortisol levels as Cohen's d was; -0.744 (95% CI, -1.47 to -0.00, $p = .047$) for anticipation; -1.426 (95% CI, -2.80 to -0.04, $p = .043$) for stress; and -0.301 (95% CI, -0.49 to -0.10, $p = .002$) for AUC. Moreover, for pharmacological challenge association between resilience I and cortisol levels as Cohen's d was -0.341 (95% CI, -0.57 to -0.16, $p = .000$).

3.6.2 Resilience II

Psychological stressor (Supplemental Figure 5A): The overall association between resilience II and cortisol levels as Cohen's d was; -0.208 (95% CI, -1.12 to -0.71, $p = .658$) for anticipation; -2.110 (95% CI, -4.13 to -0.08, $p = .041$) for stress; and -0.579 (95% CI, -1.04 to -0.11, $p = .014$) for recovery. Moreover, for pharmacological challenge association between resilience II and cortisol levels as Cohen's d was -0.571 (95% CI, -0.92 to -0.18, $p = .428$).

3.7 Meta-regression

Meta-regression of Cohen's d versus revealed time since exposure revealed that increased temporal proximity to adversity exposure was also associated with higher cortisol levels ($B = -0.011$, 95% CI 0.0045 to 0.0017, $p = .0007$). Source tissue, percent female, cortisol assay and study quality score were not associated with cortisol levels.

4. DISCUSSION

The overall effect of this meta-analysis does not support an association between cortisol levels and childhood maltreatment. However, cortisol levels are known to be highly sensitive of other variables, such as time of the day, sex, psychopathology and the developmental stage, and this can explain why the literature present mixed findings. In this order, we performed several meta-analyses to better explain the relationship between early stress and cortisol levels. Thus, our main associations are regarding childhood maltreatment and its (1) negative associations with early childhood and not other development periods, (2) negative associations with PTSD, (3) positive associations with MDD and (4) association of new evidence of a distinct cortisol phenotype for subjects with same psychiatric disorders who report or not a history of CM.

The participants age influenced the effect size both in basal and dynamic cortisol, with early childhood showing greater hypo-activity and blunted response to stress conditions, and these finding are not sustained in adolescents and adults. This are in contrast with the clinical (Tarullo & Gunnar, 2006) and pre-clinical (Tractenberg et al., 2016) literature, which shows long-term biological alterations, especially in the HPA-axis. Our lack of association in adolescents and adults could be explained by several factors. One of then it is that during adolescence and adulthood the individual may be exposed to other potentials stressors (e.g., assault, mourning, car accident). In this sense, there is a previously meta-analysis showing in adult subjects no differences between people with PTSD and trauma-exposed controls (Meewisse, Reitsma, de Vries, Gersons, & Olf, 2007), thus control for other life-stress it is important in this type of studies. Also, it is possible that with increasing years since exposure may “reverse” the glucocorticoids sensitivity to stress, but we can’t assess this hypothesis in this study and longitudinal studies are needed to that matter.

Another important factor that can contribute to no association with long-lasting effects is the fact that many of the adults subjects have a mental disorder diagnosis, and that different types of diagnosis, independent of early life exposure, has different effects on cortisol (Zorn et al., 2017). For example, it is highly documented that individuals with PTSD presented an enhanced negative feedback mechanism that leads with lower basal cortisol levels, in the other hand, MDD patients presented impairment on negative feedback, resulting in increased basal cortisol levels (Shea, Walsh, Macmillan, & Steiner, 2005). Pre-clinical data indicate that altered GR function in the hypothalamus moderates these effects in each diagnosis (Yehuda, 2002). Considering that childhood maltreatment increases the risk for both MDD (OR 2.6) and PTSD (OR 4.4) (Teicher & Samson, 2013) and that these diagnosis has different neurobiology pathways, it is not possible to evaluate cortisol levels in adults without taking account mental disorders. In this sense, 60% of included studies did not have a psychiatric evaluation and for these with psychiatric evaluation, 80% not evaluated the presence of comorbidities, contributing to the lack of associations found.

Due to the findings related to the presence of diagnosis, we investigated the cortisol differences between individuals with and without maltreatment who share the same mental disorder. We performed this in order to evaluate the potential allostatic load of an overload of CM added to diagnosis. The analysis was inspired by the theory proposed by Martin Teicher about ecophenotypes (phenotypic expression of psychopathology that are strongly influenced by childhood maltreatment exposure) (Teicher & Samson, 2013). Thus, we found that for MDD patients with CM exposure, basal cortisol levels are even higher than MDD patients without CM history. Furthermore, We found the same results for SUD and psychosis patients in basal cortisol, but we did not find association between dynamic cortisol and ecophenotypes.

In this sense, early life exposure may influence a different neurobiology profile between subjects with the same diagnosis. Teicher and colleagues argues that this knowledge can define future diagnosis system, as well treatment guidelines, since a person with same diagnosis boundaries, but with CM history may be presented different biological and clinical symptoms.

We also found an interesting association between dynamic cortisol levels and resilience. Overall, we found that individuals without psychiatry diagnosis exposed to CM in comparison to individuals with psychiatry diagnosis and exposed to CM (Resilience I design) had lower cortisol levels in response to stress. Similar happened with Resilience II design that include individuals without psychiatry diagnosis and exposed to CM in comparison to individuals without psychiatry diagnosis non-exposed, the group exposed to CM but without diagnosis also showed lower cortisol levels in response to stress. We have known from the literature that CM it is an important risk factor to the development of trauma and mood related disorders, and that cortisol plays an important role in the problems to maintain allostasis and react adaptively to stress. Thus, resilience to stress may be associated to the organism capacity to maintain HPA activity within an “optimal” range once the stressor no longer exists. These resilient individual may have a inhibition on feedback, mediated by GRs at the hippocampus, reducing the secretion of cortisol levels, lowering the stress response. However we found this association, true resilience would require assessment of cortisol and other biological and psychological variables prior and after the trauma onset.

The present study has some limitations that must be highlighted. We performed several meta-analysis to take into account the multi-variant type of studies, so our data were not sufficient to answer all questions raised by the association between cortisol and CM and this meta-analysis should be considered exploratory. Moreover, we found

huge variability across the studies regarding childhood maltreatment definition, time of exposure and assessment, and for this reason, we were not able to controlling for these confounding variables. Type of mental disorder and timing and measurement of cortisol were other great deal of variability. Finally, it is possible that we have missed some potential studies due our key words used to search the articles.

5. CONCLUSION

The exact biopsychosocial mechanisms of risk for mental health underlying childhood maltreatment is undoubtedly a complex interplay of various factors. Since the first article published regarding cortisol and early trauma, cortisol has been extensively studied. We found mixed results, however we found negative associations with early childhood and an association of a distinct cortisol phenotype for subjects with same psychiatric disorders who report or not a history of CM.

Remains the challenge for understand biological mechanism of risk and resilience in order to promote effectives intervention to promote/reverse healthy cortisol regulation. Furthermore, these results highlight the importance of preventing, recognizing and intervening on CM.

REFERENCES

- Carrion, V. G., Weems, C. F., Ray, R. D., Glaser, B., Hessel, D., & Reiss, A. L. (2002). Diurnal salivary cortisol in pediatric posttraumatic stress disorder. *Biol Psychiatry*, *51*(7), 575-582.

- De Bellis, M. D., & Zisk, A. (2014). The biological effects of childhood trauma. *Child Adolesc Psychiatr Clin N Am*, 23(2), 185-222, vii. doi: 10.1016/j.chc.2014.01.002
- Dong, M., Anda, R. F., Felitti, V. J., Dube, S. R., Williamson, D. F., Thompson, T. J., . . . Giles, W. H. (2004). The interrelatedness of multiple forms of childhood abuse, neglect, and household dysfunction. *Child Abuse Negl*, 28(7), 771-784. doi: 10.1016/j.chiabu.2004.01.008
- Hart, J., Gunnar, M., & Cicchetti, D. (1995). Salivary cortisol in maltreated children: Evidence of relations between neuroendocrine activity and social competence. *Development and Psychopathology*, 7(1), 15.
- Heim, C., Newport, D. J., Mletzko, T., Miller, A. H., & Nemeroff, C. B. (2008). The link between childhood trauma and depression: insights from HPA axis studies in humans. *Psychoneuroendocrinology*, 33(6), 693-710. doi: 10.1016/j.psyneuen.2008.03.008
- Lupien, S. J., McEwen, B. S., Gunnar, M. R., & Heim, C. (2009). Effects of stress throughout the lifespan on the brain, behaviour and cognition. *Nat Rev Neurosci*, 10(6), 434-445. doi: 10.1038/nrn2639
- McEwen, B. S. (2007). Physiology and neurobiology of stress and adaptation: central role of the brain. *Physiol Rev*, 87(3), 873-904. doi: 10.1152/physrev.00041.2006
- McLaughlin, K. A., Sheridan, M. A., & Lambert, H. K. (2014). Childhood adversity and neural development: deprivation and threat as distinct dimensions of early experience. *Neurosci Biobehav Rev*, 47, 578-591. doi: 10.1016/j.neubiorev.2014.10.012

- Meewisse, M. L., Reitsma, J. B., de Vries, G. J., Gersons, B. P., & Olf, M. (2007). Cortisol and post-traumatic stress disorder in adults: systematic review and meta-analysis. *Br J Psychiatry*, *191*, 387-392. doi: 10.1192/bjp.bp.106.024877
- Selye, H. (1985). The nature of stress. *Basal Facts*, *7*(1), 3-11.
- Shea, A., Walsh, C., Macmillan, H., & Steiner, M. (2005). Child maltreatment and HPA axis dysregulation: relationship to major depressive disorder and post traumatic stress disorder in females. *Psychoneuroendocrinology*, *30*(2), 162-178. doi: 10.1016/j.psyneuen.2004.07.001
- Tarullo, A. R., & Gunnar, M. R. (2006). Child maltreatment and the developing HPA axis. *Horm Behav*, *50*(4), 632-639. doi: 10.1016/j.yhbeh.2006.06.010
- Teicher, M. H., & Samson, J. A. (2013). Childhood maltreatment and psychopathology: A case for ecophenotypic variants as clinically and neurobiologically distinct subtypes. *Am J Psychiatry*, *170*(10), 1114-1133. doi: 10.1176/appi.ajp.2013.12070957
- Teicher, M. H., Samson, J. A., Anderson, C. M., & Ohashi, K. (2016). The effects of childhood maltreatment on brain structure, function and connectivity. *Nat Rev Neurosci*, *17*(10), 652-666. doi: 10.1038/nrn.2016.111
- Tractenberg, S. G., Levandowski, M. L., de Azeredo, L. A., Orso, R., Roithmann, L. G., Hoffmann, E. S., . . . Grassi-Oliveira, R. (2016). An overview of maternal separation effects on behavioural outcomes in mice: Evidence from a four-stage methodological systematic review. *Neurosci Biobehav Rev*, *68*, 489-503. doi: 10.1016/j.neubiorev.2016.06.021
- Tyrka, A. R., Burgers, D. E., Philip, N. S., Price, L. H., & Carpenter, L. L. (2013). The neurobiological correlates of childhood adversity and implications for treatment. *Acta Psychiatr Scand*, *128*(6), 434-447. doi: 10.1111/acps.12143

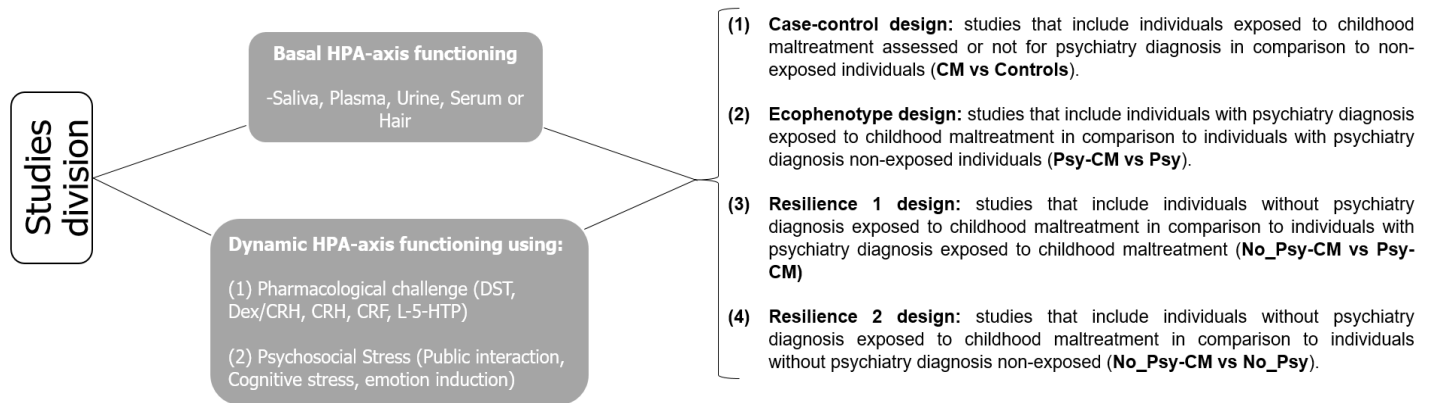
- Tyrka, A. R., Wier, L., Price, L. H., Ross, N., Anderson, G. M., Wilkinson, C. W., & Carpenter, L. L. (2008). Childhood parental loss and adult hypothalamic-pituitary-adrenal function. *Biol Psychiatry*, *63*(12), 1147-1154. doi: 10.1016/j.biopsych.2008.01.011
- van Bodegom, M., Homberg, J. R., & Henckens, Mjag. (2017). Modulation of the Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis by Early Life Stress Exposure. *Front Cell Neurosci*, *11*, 87. doi: 10.3389/fncel.2017.00087
- Weaver, I. C., Cervoni, N., Champagne, F. A., D'Alessio, A. C., Sharma, S., Seckl, J. R., . . . Meaney, M. J. (2004). Epigenetic programming by maternal behavior. *Nat Neurosci*, *7*(8), 847-854. doi: 10.1038/nn1276
- Yehuda, R. (2002). Post-traumatic stress disorder. *N Engl J Med*, *346*(2), 108-114. doi: 10.1056/NEJMra012941
- Zorn, J. V., Schur, R. R., Boks, M. P., Kahn, R. S., Joels, M., & Vinkers, C. H. (2017). Cortisol stress reactivity across psychiatric disorders: A systematic review and meta-analysis. *Psychoneuroendocrinology*, *77*, 25-36. doi: 10.1016/j.psyneuen.2016.11.036

Supplemental Material

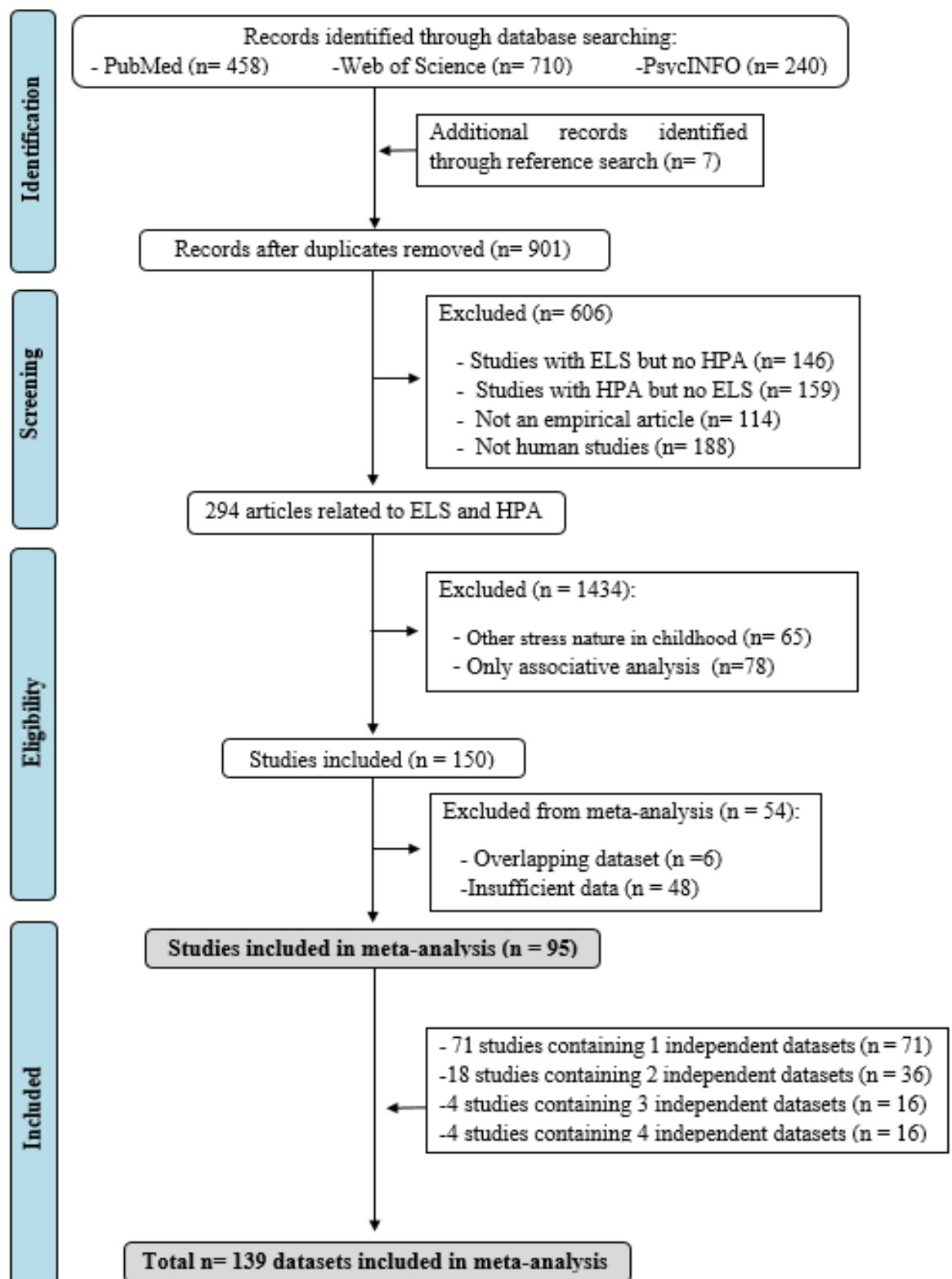
Supplemental Table 1

Supplemental table 1. Full search strings			
Search strategy	Search was performed from the earliest available date up to March 2017. The following (key)words and MeSH terms, including combinations, were used: cortisol, dexamethasone, HPA-axis, hydrocortisone, HPA, ACTH, CRH, "early life stress", "child abuse", "child maltreatment", "childhood abuse", "childhood maltreatment", "child neglect", "childhood neglect", "adversity childhood experience", "early life adversity", "early deprivation".		
Database	Medline	PsycINFO	Web of Science
Filter/limit	"Humans"	"Empirical studies" and "Humans"	"Article"
Number of articles found	458	240	710
Unique articles within database	158	20	441
Unique articles included within database	18	6	9

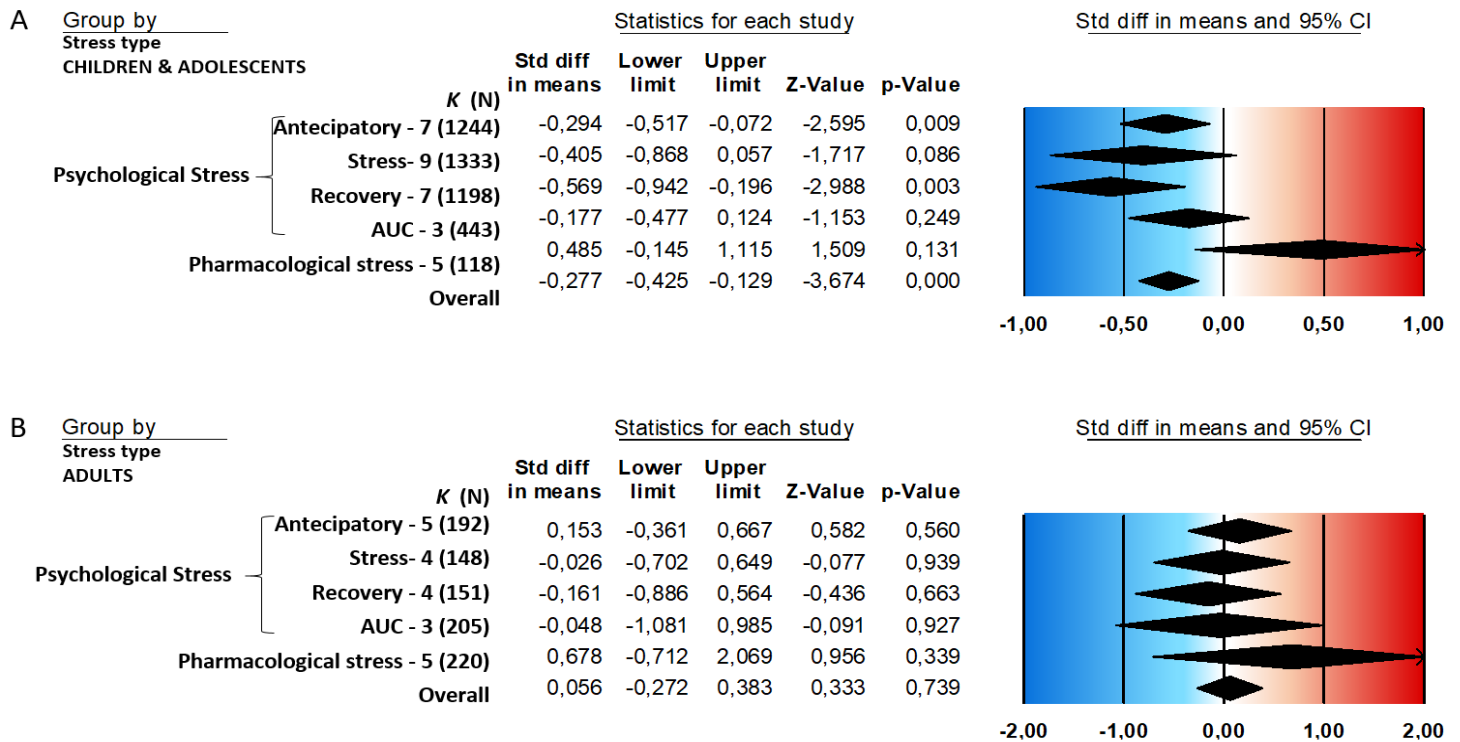
Supplemental Figure 1



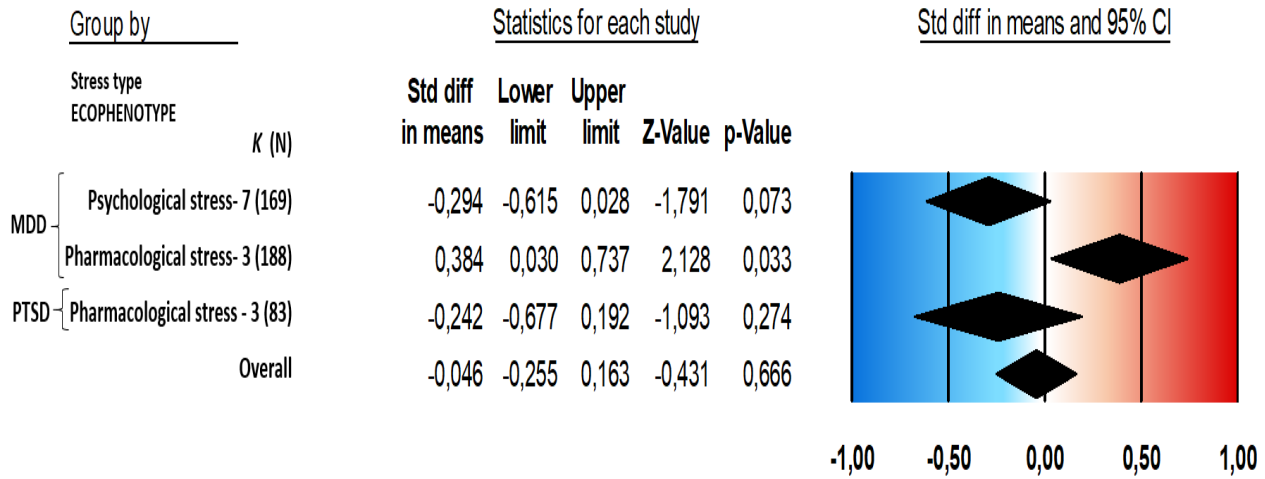
Supplemental Figure 2



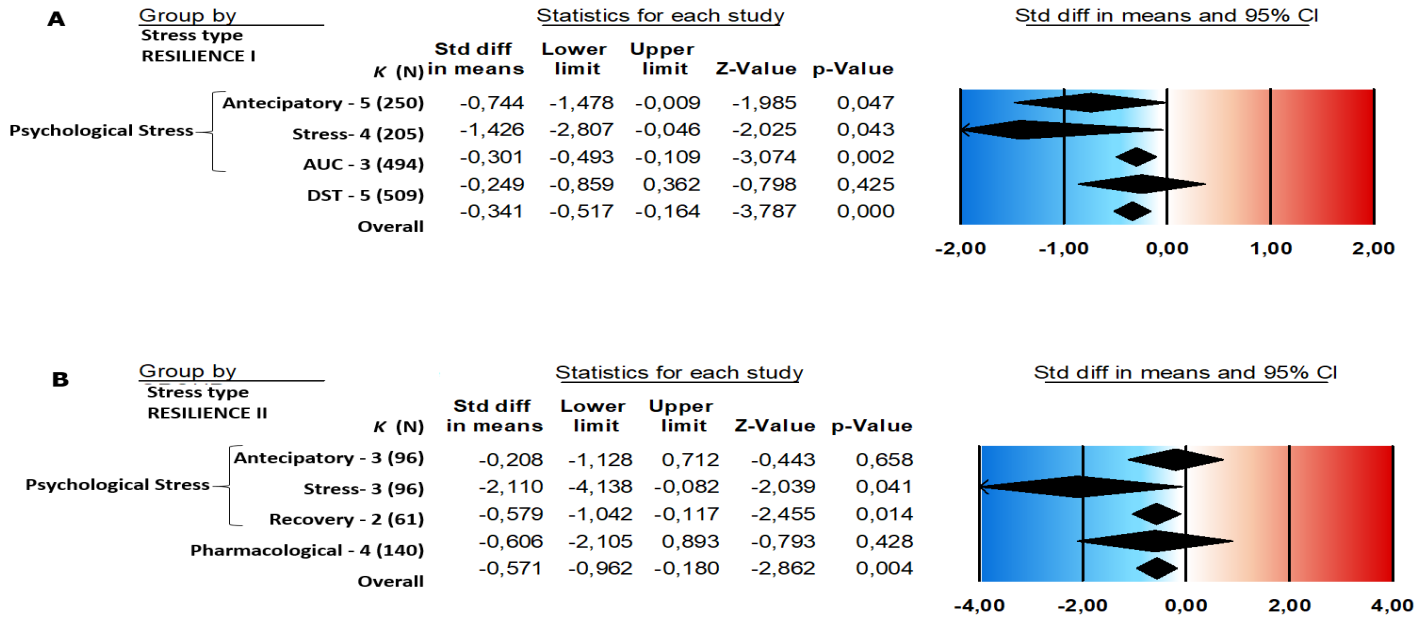
Supplemental Figure 3



Supplemental Figure 4

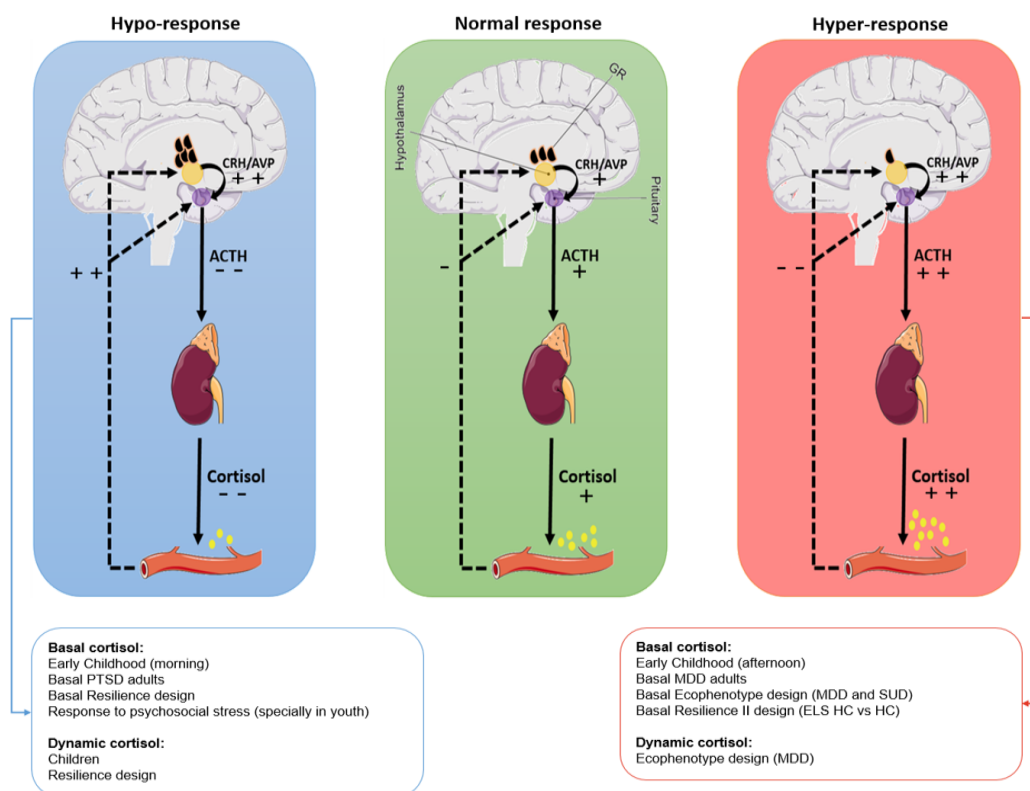


Supplemental Figure 5



Supplemental Figure 6

Qualitative data integration



Factors implicated for individual variation in HPA levels in maltreated individuals

Genetic level

- NR3C1 promoter methylation was linked to attenuated cortisol responses to the Dex/CRH test
- NR3C1 downregulated and low levels of GR in the hippocampus leading to overactive HPA axis
- CRHR1 G alleles of rs110402 interacts to predict blunted cortisol reactivity to the TSST
- CRHR1 rs110402 A-allele carriers with childhood trauma exposure women exhibited increased cortisol response to the DEX/CRH
- FKBP5 tag-SNP rs9296158 predict hypo cortisol response, even with MDD
- SKA2 methylation mediates vulnerability to suicidal behaviors and PTSD through blunted cortisol response to DST test.

Brain level

- Amygdala-hippocampal connectivity is negatively associated with cortisol stress responses.
- PFC gray volumes predicted higher cortisol levels
- Lower amygdala-vmPFC functional connectivity, interact with higher cortisol

Environment level

- FKBP5 locus significantly interacted with the severity of child abuse
- Higher the number of trauma events, the higher was the NR3C1 methylation
- Number and frequency of trauma

6. Estudo 2

**Alterações no Comprimento de Telômero e no DNA Mitocondrial em um
Estudo Longitudinal de Crianças Expostas a Maus-Tratos**

Resumo

Introdução: Envelhecimento celular tem sido proposto como um mecanismo potencial da associação entre estresse e risco para doenças psiquiátricas. Estudos transversais propuseram que adultos com histórico de maus-tratos na infância (MTI) apresentam telômero encurtado comparado a adultos sem este histórico. Desta maneira, este estudo foi projetado para avaliar o efeito do MTI no comprimento de telômero (CT) e no número de cópias do DNA mitocondrial (mtDNA) em uma amostra de crianças em um estudo longitudinal. **Método:** 600 crianças foram acompanhadas em um estudo longitudinal de 3 anos e coletadas informações sobre status social, diagnóstico psiquiátrico, histórico de MTI e coleta de sangue. O DNA foi isolado para mensurar o CT, mtDNA e o ND4 por reação em cadeia da polimerase quantitativa. **Resultados:** Crianças expostas a MTI apresentam maior número de problemas comportamentais, maior taxa de diagnóstico psiquiátrico e menor CT na linha de base e no seguimento de 3 anos. Regressões múltiplas indicam que menor CT está relacionado com maior presença de problemas comportamentais e diagnóstico mental. Além disso, regressões múltiplas indicam que o desgaste dos telômeros ao longo do tempo está inversamente associado ao CT basal, mtDNA, ND4 e diretamente associado a gravidade de trauma na infância. **Conclusão:** Este é o primeiro estudo com crianças demonstrando o papel de outros biomarcadores de envelhecimento na erosão dos telômeros associado ao trauma precoce. Demonstramos que o trauma está relacionado com maior chance de transtornos mentais e que os biomarcadores de envelhecimento possuem um importante papel nesta relação. Demonstramos assim, que o impacto do trauma já pode ser observado muito cedo em relação ao envelhecimento celular.

Palavras-chave: Abuso infantil; Estresse Precoce; Telômero; Mitocôndria; Longitudinal.

1. Introdução

Os maus-tratos contra crianças são um problema de saúde pública internacional e fatores geográficos e econômicos são capazes de influenciar as variações nas estimativas de maus-tratos em todo o mundo (Viola et al., 2016). Crianças com histórico de estresse precoce estão em risco para o desenvolvimento de uma diversidade de doenças, tais como diabetes, asma, cardiopatias, depressão e transtornos relacionados a trauma (Rich-Edwards et al., 2012; Rich-Edwards et al., 2010; Scott, Smith, & Ellis, 2012; Teicher & Samson, 2013). Todas estas condições são crônicas e severas, atribuindo um alto custo de capital mental (Fang et al., 2012).

Longos períodos de alteração na resposta ao estresse foram postulados como um fenômeno central de cascatas metabólicas e neuroquímicas que irão influenciar o risco de destas doenças mencionadas (McEwen, 2003). Estas alterações na resposta ao estresse incluem a reprogramação, via mecanismo epigenéticos, do eixo hipotálamo-pituitária adrenal (HPA) e, posteriormente, no sistema imunológico do indivíduo, que podem desempenhar um papel fundamental nas consequências negativas a longo prazo (Harrison & Baune, 2014; Lupien et al., 2009). No entanto, os mecanismos biológicos pelos quais a adversidade precoce aumenta o risco de desfecho negativo de saúde ainda não são completamente compreendidos. Porém, as evidências existentes apontam para um processo de envelhecimento biológico acelerado através de comprimento de telômeros (CT) e disfunção mitocondrial (Bauer, Jeckel, & Luz, 2009; Wolkowitz, Epel, Reus, & Mellon, 2010).

O encurtamento de telômero e a disfunção mitocondrial desempenham papéis centrais no processo de envelhecimento (Batic & Larsson, 2013; Sahin & DePinho, 2012). Telômeros consistem em sequências de repetições de nucleotídeos e proteínas de

ligação ao DNA que protegem as extremidades dos cromossomos, sendo essenciais para a manutenção da estabilidade cromossômica e genética. Telômeros encurtam em cada ciclo de replicação do DNA, sendo assim, um ótimo biomarcador de envelhecimento biológico (Bernadotte et al., 2016; Blackburn, 2010). Embora este processo seja natural, o CT pode também ser influenciado pelo estresse crônico (E. S. Epel et al., 2004; Tyrka et al., 2015).

Muitas doenças crônicas envolvem estados prolongados de estresse, o que pode contribuir para a associação entre CT e condições somáticas incluindo doenças cardíacas, diabetes, asma e doenças neurodegenerativas (Gluckman & Hanson, 2004; Price et al., 2013; Zhao et al., 2017). Mecanismos propostos subjacentes à associação entre o estresse e o CT incluem disfunção mitocondrial e inativação da telomerase devido à sinalização de estresse aumentada e prolongada (Ridout, Carpenter, et al., 2016). Além de refletir o estresse biológico, o desgaste de telômeros geralmente precede o desenvolvimento de doenças crônicas, sugerindo que a erosão dos telômeros pode ser um vínculo causal que liga a adversidade precoce e a doença ao longo da vida (Blackburn et al., 2015). Também há evidências que os telômeros são encurtados em uma variedade de doenças psiquiátricas e com exposição ao estresse psicossocial (E. S. Epel et al., 2004; Ridout et al., 2017; Ridout, Ridout, Price, Sen, & Tyrka, 2016).

Outro biomarcador de envelhecimento é o número de cópias de DNA mitocondrial (mtDNA) que está fortemente associado com a função mitocondrial. As mitocôndrias produzem a maior parte do trifosfato de adenosina (ATP) da célula e desempenham um papel importante nas funções celulares, incluindo sinalização de cálcio, crescimento e diferenciação celular, controle do ciclo celular e morte celular (Osellame, Blacker, & Duchon, 2012). A respiração mitocondrial gera as espécies reativas de oxigênio (ROS) e o envelhecimento é caracterizado por aumentos na

produção de ROS mitocondriais, diminuição na função mitocondrial e acumulação de mutações no mtDNA. A função mitocondrial declina e as mutações do mtDNA acumulam-se com o envelhecimento, particularmente em tecidos com altas demandas de energia (Gredilla, Bohr, & Stevnsner, 2010). A biogênese mitocondrial, indexada pelo número de cópia do mtDNA, pode servir para compensar o aumento da demanda de energia ou redução da função mitocondrial, e está associada com doenças relacionadas à idade avançada (Sahin & DePinho, 2012).

Embora diversos estudos tenham investigado CT e exposição ao estresse, não foi identificado nenhum estudo de grande escala que combinou exposição de risco com outros fatores de envelhecimento celular com desgaste de telômeros ao longo do tempo. Revisando a literatura atual e uma meta-análise recente (Ridout et al., 2017), foi identificado apenas um estudo longitudinal (Shalev et al., 2013) investigando CT em crianças expostas a estresse precoce, porém, este estudo não investigou desfechos comportamentais ou presença de diagnóstico mental, não investigou outros potenciais biomarcadores associados ao envelhecimento celular e apresentou uma amostra menor comparada a deste estudo. Sendo assim, este estudo tem potencial de ajudar este campo de pesquisa a esclarecer a relação entre adversidades precoce, CT e o risco para doença mental.

Desta maneira, pretende-se testar a hipótese de que o CT está associado ao mtDNA, em uma grande amostra de crianças com exposição a maus-tratos na infância em um desenho longitudinal de 3 anos. Este desenho permitirá explorar a relação entre exposição adversa e desgaste acelerado do telômero, e se este desgaste pode estar associado a desfechos comportamentais.

2. Método

2.1 Delineamento

A figura 1 ilustra de maneira esquemática o delineamento deste estudo longitudinal. De uma maneira geral, os participantes desta pesquisa fazem parte do Estudo de Coorte de Alto Risco para Transtornos Psiquiátricos (High Risk Cohort Study for Psychiatric Disorders), que está amplamente descrito em outra publicação (Salum et al., 2015). A população selecionada pelo estudo de coorte ocorreu da seguinte maneira: Primeiro foram avaliados sintomas comportamentais das crianças e antecedentes familiares de transtorno mental utilizando o instrumento Family History Survey (FHS) em 9,937 famílias (mãe biológica em 88% dos casos foram as respondentes).

Após essa triagem inicial, uma subamostra aleatória (para obter representatividade da comunidade, $n = 958$) e uma subamostra de alto risco (amostra com crianças com risco aumentado para transtornos mentais, $n = 1554$) foram selecionados para mais uma avaliação. Para os sujeitos de seleção aleatória, foi utilizado um procedimento de randomização simples. Para a amostra de alto risco o estrato foi composto de crianças que selecionaram positivamente para qualquer um dos cinco domínios visados (déficit de atenção /transtorno de hiperatividade, ansiedade, obsessivo-compulsivo, psicose e distúrbios de aprendizagem), que foram selecionados para gerar uma amostra com psicopatologia diversificada. Crianças com maior número de familiares com transtorno mental foram priorizados para compor o grupo de alto risco.

Com as duas subamostras, a amostra total da coorte ficou em 2,512 crianças para coletas domiciliares, porém 780 crianças foram selecionadas aleatoriamente para o protocolo de neuroimagem e coleta de sangue do estudo. Um total de 741 crianças concluíram os procedimentos de neuroimagem e foram convidadas a doar amostras de sangue para o estudo. Na segunda fase estas mesmas crianças foram convidadas a participar novamente do protocolo de neuroimagem e sangue. Destas 741 crianças, conseguimos amostras de DNA de 600 na primeira fase e de 458 na segunda fase. Motivos principais por falta de sucesso em obter o DNA foram: cuidador recusou a participação nesta etapa do estudo; crianças recusou-se a coletar sangue e complicações técnicas durante procedimentos de processamento de sangue ou durante isolamento do DNA.

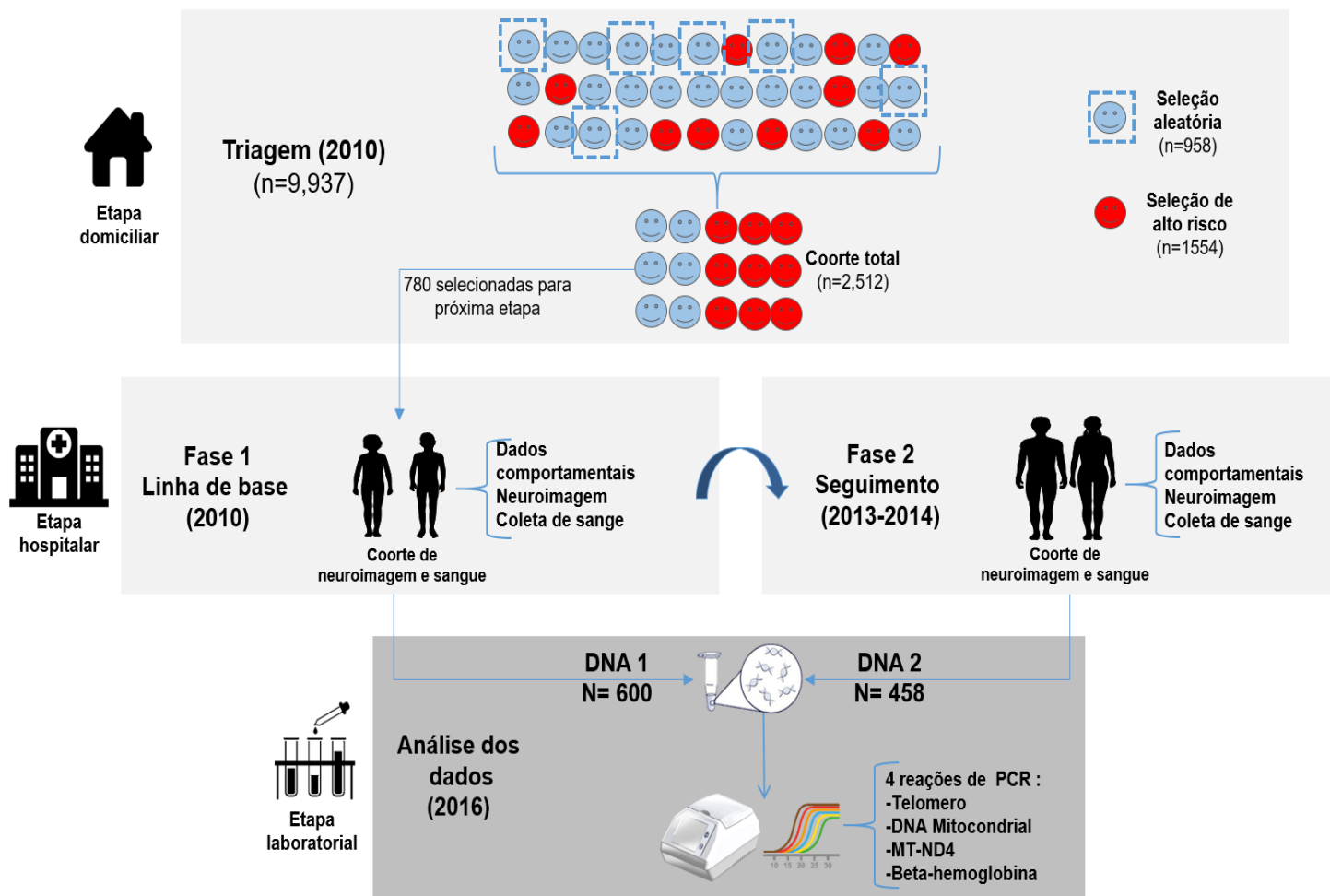


Figura 1. Esquema ilustrativo do delineamento de pesquisa.

2.2 Avaliação

2.2.1 Variáveis demográficas

Todos os participantes foram avaliados quanto às características sociodemográficas. O status socioeconômico foi medido usando os critérios padrão sugeridos pela Associação Brasileira de Estudos Populacionais (ABEP) durante a linha de base e seguimento (ABEP, 2010).

2.2.2 Problemas comportamentais

O *Child behavior checklist* (CBCL) é um questionário de relato parental que avalia vários problemas comportamentais e emocionais da criança. Foi uma das medidas padronizadas mais amplamente utilizadas para avaliação comportamento não adaptado e complicações emocionais em crianças e adolescentes com idades entre 4 e 18 (Ivanova et al., 2007). Para este estudo, utilizamos a pontuação de problemas totais do CBCL. A escala foi aplicada durante a linha de base e seguimento.

2.2.3 Presença de doença mental

Uma entrevista diagnóstica estruturada com o DAWBA (Development and Well-Being Assessment - DAWBA), foi realizada com o cuidador principal acerca da criança. Este instrumento provê diagnósticos psiquiátricos de acordo com o DSM-IV e CID-10 (Goodman, Heiervang, Collishaw, & Goodman, 2011). Tendo em vista a importância do diagnóstico psiquiátrico, essa entrevista possui uma avaliação aberta (semi- estruturada), que recebe supervisão de um psiquiatra treinado para aumentar a validade dos diagnósticos clínicos.

2.2.4 Presença e Gravidade de Maus-tratos Infantis

As perguntas sobre o maus-tratos na infância foram selecionadas para representar quatro categorias principais que são extensamente estudadas na literatura, são elas: (a) abuso físico (infligir lesões corporais por meios não acidentais); (b) negligência (falta de fornecer cuidado mínimo e / ou falta de supervisão adequada); (c) maus-tratos emocional (falha em fornecer ou atingir as necessidades emocionais básicas de uma criança); e (d) abuso sexual (contato sexual ou tentativa de contato sexual). Perguntas semelhantes são frequentemente usadas em outras pesquisas e estão próximas

dos constructos avaliados por outros instrumentos que avaliam os maus-tratos na infância, como o Questionário de Traumas Infantis (CTQ) (Bernstein et al., 2003).

Entrevistadores leigos e treinados realizaram o protocolo de pesquisa aplicando nos pais usando as seguintes perguntas: "Já aconteceu com [nome da criança] de ser seriamente espancado por um adulto (incluindo você) em casa, deixando-o ferido ou com contusões ou marcas? "; "Já aconteceu de [nome da criança] não ter o suficiente para comer ou ser forçado a usar roupas sujas ou rasgadas? "; "Já aconteceu com [nome da criança] ser xingada com palavras como estúpido, idiota, chato ou inútil ou sendo exposto a alguém gritando ou agredindo verbalmente? "; e 'Alguém já fez algo sexual com [nome da criança] ou ameaçou machucá-lo se [nome da criança] se recusou a fazê-lo? '.

As primeiras três perguntas também foram solicitadas para crianças por psicólogos clínicos treinados da seguinte maneira: "Já aconteceu de você ser seriamente espancado por um adulto em casa, deixando-o machucado ou com contusões ou marcas?"; "Já aconteceu que você não tenha o suficiente para comer ou ser forçado a usar roupas sujas ou rasgadas?"; "Já aconteceu de você ser xingado com palavras como estúpido, idiota, chato ou inútil ou exposto a alguém gritando ou agredindo verbalmente?". Todas as respostas a essas perguntas foram classificadas em uma escala de 4 pontos: (0) 'Nunca'; (1) 'Uma ou duas vezes'; (2) "Às vezes"; (3) "Frequentemente".

Uma vez que buscamos combinar informações dos relatos das crianças e dos pais, foi ajustado uma medida unidimensional de maus-tratos infantis, utilizando a análise fatorial confirmatória (CFA) para se obter uma única estimativa de maus-tratos contra a criança. Os procedimentos de análise destes dados estão amplamente descritos em outra publicação (Salum et al., 2016).

2.2.5 Medidas de envelhecimento celular

O sangue foi coletado e posteriormente o DNA foi isolado utilizando técnica padrão. Quatro reações em cadeia da polimerase (PCR) foram realizadas para quantificar o número de cópias de telômero, DNA mitocondrial, ND4 e o gene da beta-hemoglobina como gene padrão (gene de referência), conforme descrito anteriormente (O'Callaghan & Fenech, 2011). Os dados foram adquiridos usando o sistema de detecção de sequência de DNA ABI Prism HT79000 (Applied Biosystems, Grand Island, New York).

As reações de PCR foram realizadas em placas de 384 poços em um volume de reação de 10 ml contendo aproximadamente 25 ng de DNA, 300 nmol / L de cada iniciador (primer) e preenchidos com Sybr Select Master Mix (Life Technologies Corporation, Grand Island, New York). Todas as placas de reação continham poços com série diluições de um amplicon clonado para cada gene investigado para permitir a quantificação absoluta do telômero, DNA mitocondrial, ND4 e número de cópias de beta-hemoglobina. Uma curva padrão para cada placa de 384 poços foi utilizada para determinar diretamente o número de cópias para os genes avaliados. Todas as análises foram realizadas em quadruplicada e realizado uma média dos quatro valores, excluindo apenas valores que extrapolassem o desvio padrão.

Abaixo os genes investigados de maneira detalhada:

(I) Beta-hemoglobina: As sequências dos iniciadores direto e reverso para o gene da beta-hemoglobina serão GCT TCT GAC ACA ACT GTG TTC ACT AGC e CAC CAA CTT CAT CCA CGT. Um passo de aquecimento inicial de 95⁰C por 10 minutos será seguido de 40 ciclos de 95⁰C por 15 segundos e 60⁰C por 1 minuto.

(II) DNA mitocondrial: As sequências dos iniciadores direto e reverso para o mtDNA serão CAT CTG GTT CCT ACT TCA GGG e TGA GTG GTT AAT AGG

GTG ATA GA (78). Um passo de aquecimento inicial de 95⁰C por 10 minutos será seguido por 40 ciclos de 95⁰C para 15 segundos e 60⁰C por 1 minuto. Para obter um índice de número de cópias de DNA mitocondrial, o número da cópia mtDNA será dividido por o número da cópia para o gene da beta-hemoglobina.

(III) Telômero: As sequências dos iniciadores direto e reverso para o telômero serão CGG TTT GTT TGG GTT TGG GTT TGG GTT TGG GTT TGG GTT (Tel1b) e GGC TTG CCT TAC CCT TAC CCT TAC CCT TAC CCT TAC CCT (Tel2b). Um passo de aquecimento inicial de 95⁰C durante 30 minutos será seguido por 40 ciclos de 95⁰C para 15 segundos e 60⁰C por 1 minuto. A proporção de cópias do telômero será obtido uma razão entre o telômero e a beta-hemoglobina, multiplicado pelo comprimento do amplicon do telômero e em seguida dividido pelo número de cromossomos. O comprimento dos telômeros será descrito em número total de pares de bases.

(IV) ND4: As sequências dos iniciadores direto e reverso para o ND4 serão CAC CTA TGA CTA CCA AAA GCT CAT GTA GAA GCA. Um passo de aquecimento inicial de 95⁰C por 10 minutos será seguido de 40 ciclos de 95⁰C por 15 segundos e 60⁰C por 1 minuto. Para obter um índice de ND4, o número da cópia será dividido por o número da cópia de mtDNA.

3. Considerações Éticas

Este estudo foi realizado de acordo com a última versão do Declaração de Helsinque, o comitê de ética das instituições envolvidas aprovaram este estudo e todos os participantes (pais) forneceram consentimento livre e esclarecido informado por escrito antes da pesquisa. Todos as crianças forneceram consentimento verbal e

informado antes da sua participação, assim como assinaram um termo de assentimento. Todas as famílias foram convidadas para uma consulta com um psicólogo treinado ou assistente social no caso de estarem interessados em receber os resultados da avaliação do estudo.

Todas as crianças identificadas como sendo submetidos à necessidade de cuidados foram encaminhados para avaliação clínica. Situações envolvendo o risco grave de danos físicos ou psicológicos recebeu atenção especial de acordo com as diretrizes das autoridades. Especificamente, as crianças que relataram maus-tratos infantis foram chamadas para uma entrevista clínica com um psiquiatra para investigar o nível de exposição e, quando apropriado, ser encaminhado para serviços de proteção da criança. Além disso, todas as crianças com diagnóstico positivo de transtorno mental foram contatadas para psicoterapia sobre o diagnóstico e encaminhamento para as unidades de saúde da família para o tratamento adequado.

4. Análise estatística

Todas as variáveis foram descritas como porcentagens ou médias e desvios padrão para toda a amostra. Variáveis categóricas foram comparadas entre grupos com o teste de qui-quadrado. Distribuição das variáveis contínuas foram testadas pelo teste de Shapiro-Wilk. Para variáveis contínuas foram utilizados o Teste, Mann–Whitney ou Kruskal–Wallis quando apropriado. Utilizamos testes de comparação para verificar diferenças entre crianças com e sem histórico de trauma na infância. As análises descritivas e de comparação de médias foram realizadas no software SPSS versão 20.0 (IBM Corp., Armonk, NY, EUA).

Após verificar diferenças em relação as variáveis de envelhecimento celular entra crianças com e sem histórico de maus-tratos, realizamos uma matriz de correlação

entre todas as variáveis, com o intuito de subsidiar a análise exploratória e a identificação de relações em regressões múltiplas. Para a análise das relações entre as variáveis e seu efeito nos desfechos primários e secundários, os modelos de regressão foram utilizados para estimar a associação entre os determinantes medidos na linha de base e no seguimento com o CT de linha de base, CT de seguimento e erosão do CT ao longo do tempo. As análises de regressão múltipla foram realizadas por meio do pacote Lavaan do software R (versão 2.10.0). Para interpretação do ajuste do modelo, foram adotados os seguintes parâmetros de recorte: Índice de Tucker-Lewis (TLI), ideal maior que 0,95; Índice de ajustamento comparativo (CFI), ideal maior que 0,95; e Raiz do erro quadrático médio de aproximação (RMSEA), ideal menor que 0,05.

Paras as análises neste estudo, utilizamos a variável maus-tratos de maneira categórica (ausência ou presença de qualquer tipo de exposição traumática) e de maneira contínua (número e frequência de exposição, gerando um index de gravidade) para as análises exploratórias de correlação e regressão. A erosão do telômero foi calculada subtraindo o telômero da linha de base pelo telômero do seguimento. Em todas as análises foi adotado o nível de significância de 5%.

5. Resultados

Dados sócio-demográficos e clínicos

As estatísticas descritivas são apresentadas na Tabela 1, separadas entre a amostra total do estudo e pelas crianças com histórico de maus-tratos (MTI+) e sem histórico de maus-tratos (MTI-). De uma maneira geral, os grupos MTI+ e MTI- não diferiram em relação a idade, status econômico, QI estimado e sexo. Porém, os grupos diferiram em relação aos dados comportamentais (CBCL). O grupo MTI+ apresentou significativamente maior número de sintomas comportamentais na linha de base e no seguimento em comparação com o grupo MTI-. Em relação a presença de diagnóstico de transtorno mental, o grupo MTI+ apresentou maior prevalência de diagnóstico tanto na linha de base quanto no seguimento.

Comprimento do Telômero

O grupo MTI- obteve telômeros significativamente mais longos na média, tanto na linha de base quanto no seguimento, comparado ao grupo MTI+. Além disso, a erosão telomérica foi menor no grupo MTI-, ou seja, este grupo perdeu menos pares de bases do comprimento do telômero em relação ao grupo MTI+ (Tabela 1).

DNA mitocondrial e ND4

O grupo MTI- obteve significativamente maior número de cópias de mtDNA em comparação ao grupo MTI- apenas no seguimento. Em relação ao ND4, o grupo MTI- apresentou maior proporção tanto na linha de base quanto no seguimento (Tabela 1).

Tabela 1. Dados demográficos, clínicos e de envelhecimento celular

Variáveis	Amostra total	MTI -	MTI +	Valor de p*
Idade (linha de base)	10,69 (1,92)	10,50 (1,79)	10,86 (2,02)	0.064
Idade (Seguimento)	14,40 (1,82)	14,20 (1,79)	14,56 (1,83)	0.081
CBCL total (linha de base)	46,31 (30,23)	37,80 (26,48)	54,52 (3,41)	< 0.001
CBCL total (Seguimento)	56,01 (32,35)	43,64 (27,62)	66,08(32,49)	< 0.001
Status econômico (linha de base)	21,43 (4,33)	22,01 (4,31)	20,89 (4,28)	0.075
Status econômico (Seguimento)	21,12 (4,39)	21,43 (4,81)	20,88 (4,04)	0.285
Presença doença psiquiátrica (linha de base)	28,8%	20,1%	30,9%	< 0.001
Presença doença psiquiátrica (Seguimento)	36,6%	28,5%	45,4%	< 0.001
% Feminino	40,7%	44,4%	40,8%	0,280
% subamostra de alto risco	50%	44,8%	59,5%	< 0.001
QI estimado	102,28 (16,62)	103,40 (16,84)	101,21(16,37)	0.116
Telômero (linha de base) ¹	8356,32 (1578,15)	8797,41 (1427,60)	7935,33 (1602,00)	< 0.001
Telômero (Seguimento) ¹	7605,06 (1690,29)	8150,68 (1690,47)	7151,10 (1553,21)	< 0.001
Erosão do telômero ¹	611,62 (809,30)	406,65 (724,87)	767,87 (789,25)	< 0.001
mtDNA (linha de base) ¹	211,81 (97,20)	219,44 (92,30)	214,55 (101,26)	0.061
mtDNA (Seguimento) ¹	178,16 (70,92)	158,80 (68,86)	139,28 (71,54)	0.013
ND4 (linha de base) ¹	79,90 (39,24)	83,34 (52,47)	76,62 (52,47)	0.038
ND4 (Seguimento) ¹	66,12 (14,22)	68,12 (13,15)	64,45 (14,88)	0.033

Notas:

MTI +, grupo positivo para maus-tratos; MTI -, grupo negativo para maus-tratos; CBCL, *Child behavior checklist*. *, análise estatísticas entre os grupos MTI+ e MTI-. ¹, análises foram covariadas para efeito de bancada e idade.

Análises de correlação

Análises de correlação foram realizadas com toda a amostra para verificar associações entre as variáveis e fornecer subsídios para a inserção de variáveis nos modelos de regressão posteriormente.

A matriz completa de correlações encontra-se na tabela suplementar 1. Destaca-se algumas das principais correlações dentro das hipóteses deste estudo: O CT foi correlacionado negativamente com idade como esperado, quanto maior a idade menor o tamanho do CT tanto na linha de base quanto no seguimento. O CT na linha de base também foi correlacionado negativamente com trauma, quanto maior a gravidade do trauma menor o CT. Trauma também foi correlacionado positivamente com sintomas comportamentais e presença de diagnóstico psiquiátrico. O CT da linha de base se correlacionou negativamente com erosão telomérica, indicando que o CT longos estão relacionados com menor redução de telômeros ao longo do tempo. O CT também se correlacionou positivamente com mtDNA, porém não houve correlação significativa com ND4.

Determinantes do comprimento do telômero e desfechos comportamentais

Para explorar os possíveis determinantes do tamanho do telômero e dos desfechos comportamentais, foi realizada análise de regressão múltipla com inserção das variáveis de acordo com as hipóteses deste estudo. A cada inserção de uma ou mais variáveis, foi constituído um novo modelo. 3 modelos foram realizados. Para cada modelo uma figura ilustrativa foi criada. As figuras representam exatamente as mesmas relações apresentadas na sua respectiva tabela. As relações inversas são plotadas em vermelho e relações diretas em verde. Os valores das figuras são as estimativas padronizadas das tabelas. Quanto mais forte a linha, mais forte a relação.

O primeiro modelo é o mais simplificado, incluindo apenas idade, telômeros, CBCL e presença de transtorno mental (Modelo 1; tabela suplementar 2 e figura 2). Nesse modelo, foi encontrado que quanto maior a idade menor o CT. Também verificou-se que quanto mais longo o CT menor são os níveis de problemas comportamentais (CBCL) e menor chance para transtorno mental.

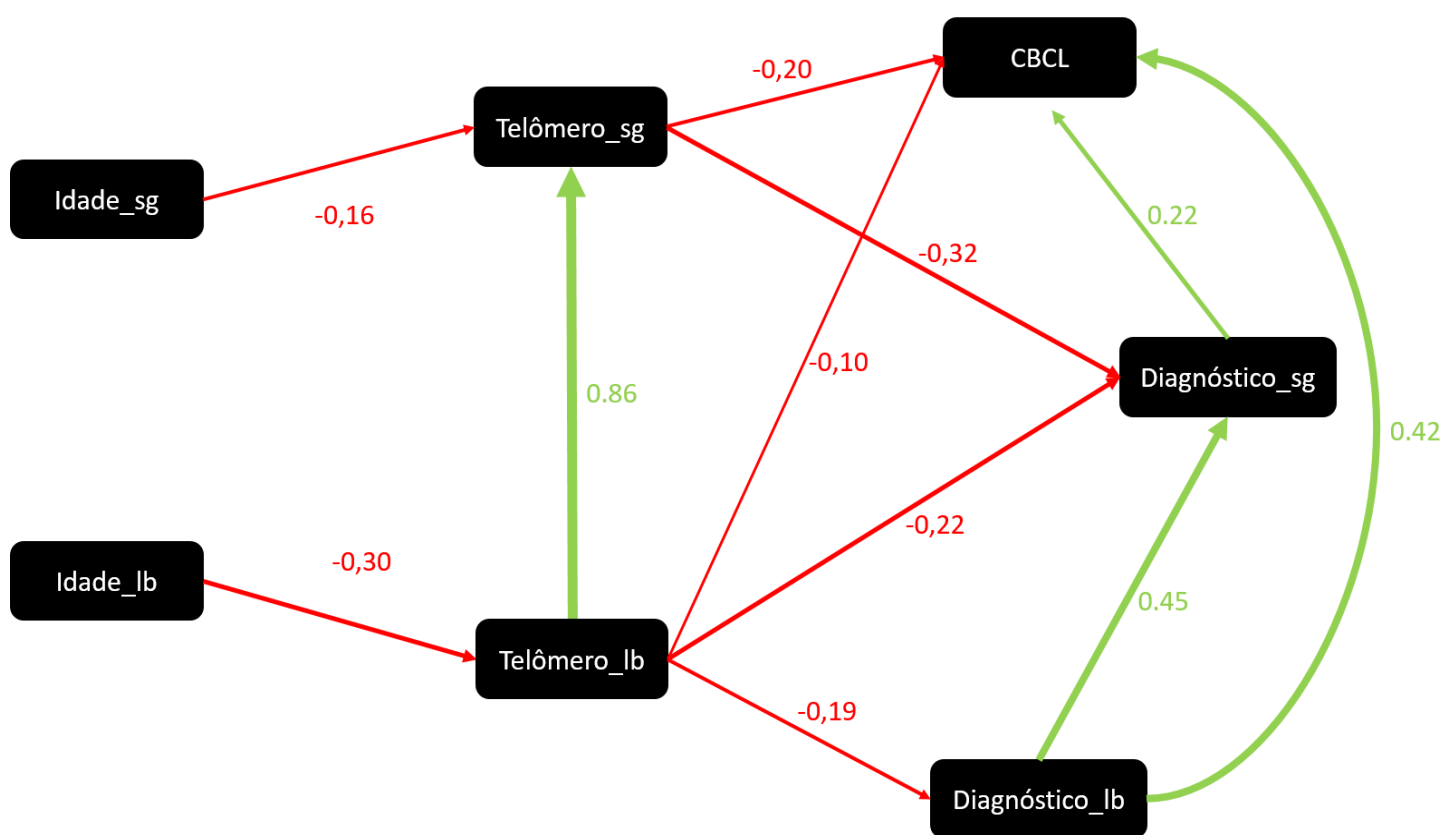


Figura 2. Modelo de regressão 1. As relações inversas são plotadas em vermelho e relações diretas em verde. Os valores das figuras são os valores beta da análise de regressão. Quanto mais forte a linha, mais forte a relação. lb, linha de base; sg, seguimento.

No segundo modelo (Modelo 2; tabela suplementar 3 e figura 3) foram mantidas as variáveis do modelo 1 e inseridas novos determinantes, tais como: mtDNA, ND4, risco familiar para transtornos mentais e status social. Verificou-se que não houve relação entre status social, risco familiar e o CT. Também verificou-se que o mtDNA possui influência no CT na linha de base, enquanto o mtDNA e o ND4 possuem influência no CT durante o seguimento.

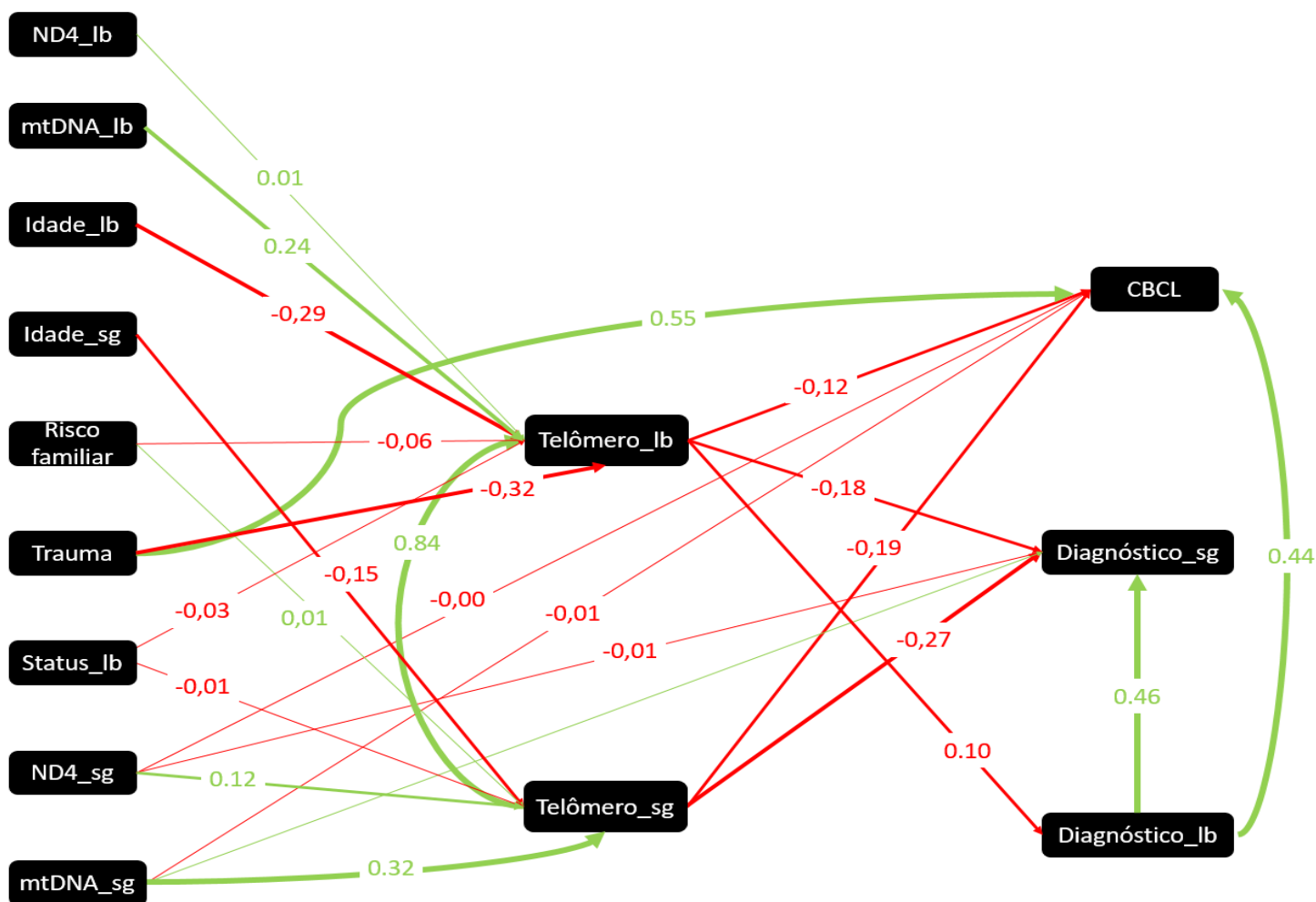


Figura 3. Modelo de regressão 2. As relações inversas são plotadas em vermelho e relações diretas em verde. Os valores das figuras são os valores beta da análise de regressão. Quanto mais forte a linha, mais forte a relação. lb, linha de base; sg, seguimento.

Já o último modelo (Modelo 3; tabela suplementar 4 e figura 4) foi realizado exclusivamente para verificar os determinantes do desgaste de telômero entre a linha de base e o seguimento. Neste modelo verificou-se que exposição traumática é o maior preditor para erosão do CT, quanto maior a gravidade do trauma maior a erosão. Também foi encontrado que quanto maior número de cópias de mtDNA e ND4 menor a erosão do telômero. Também foi encontrado que quanto maior o CT menor a erosão do telômero.

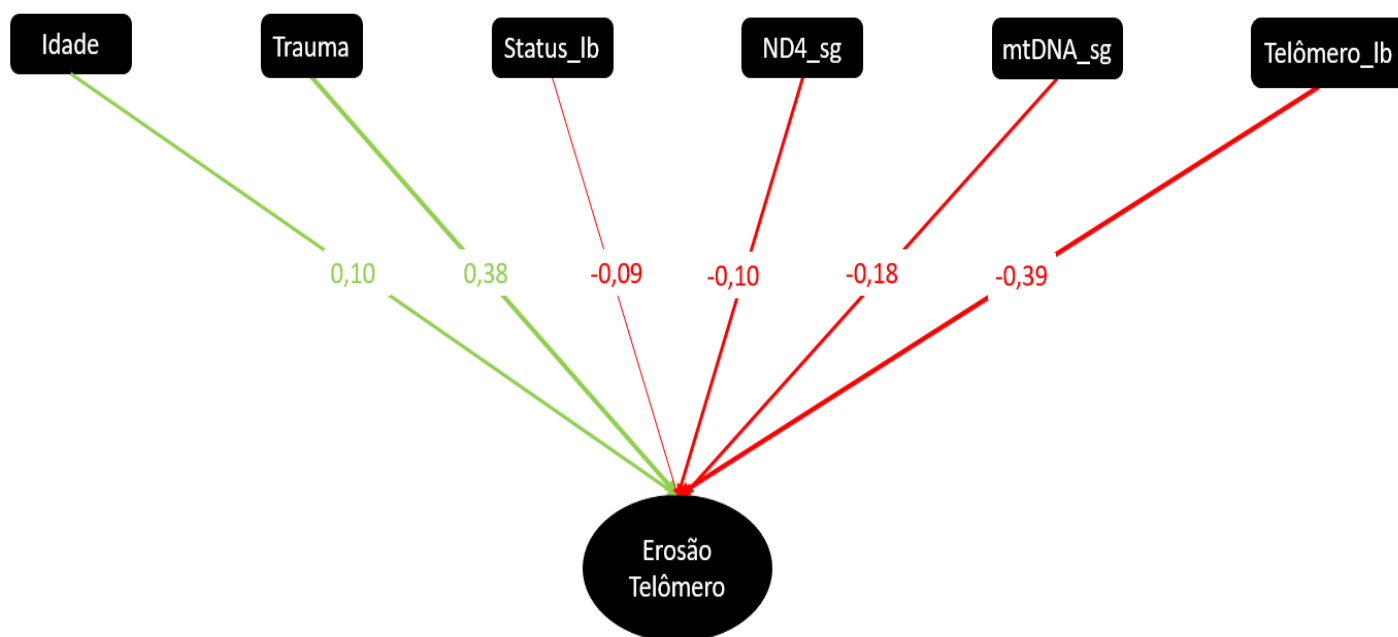


Figura 4. Modelo de regressão 3. As relações inversas são plotadas em vermelho e relações diretas em verde. Os valores das figuras são os valores beta da análise de regressão. Quanto mais forte a linha, mais forte a relação. lb, linha de base; sg, seguimento.

DISCUSSÃO

Este estudo suporta uma associação entre redução do CT relacionado à exposição traumática precoce, sendo esta associação observada ainda em estágios iniciais da vida. Também fornece a primeira evidência, na infância, da existência de uma associação entre trauma e telômeros com alterações do número de cópia do mtDNA e do ND4, duas medidas importantes do envelhecimento celular. Por fim, verifica que telômeros reduzidos aumentam a chance para transtorno mental na infância.

O estresse psicossocial já foi identificado com uma potente variável preditora de encurtamento de telômeros, sendo relacionado com o aumento do risco de doenças em pessoas que sofrem estresse crônico (E. S. Epel et al., 2004; Price et al., 2013). Sabe-se que o estresse precoce desencadeia alterações no eixo HPA (Heim et al., 2008), e estas alterações, via aumento de inflamação e estresse oxidativo, podem causar uma disfunção mitocondrial (Picard, Juster, & McEwen, 2014). Assim, os resultados deste estudo levantam a questão de que os danos no CT associado à exposição traumática podem estar relacionados com alterações no funcionamento da mitocôndria. Os telômeros são sensíveis ao dano por estresse oxidativo e à inflamação (Blackburn, 2010). Sabe-se que maus-tratos infantis alteram o eixo HPA, e a liberação de glicocorticoides pode alterar a produção de citocinas pró-inflamatórias e de estresse oxidativo (Lupien et al., 2009). As mitocôndrias também participam na resposta ao estresse e são sensíveis aos glicocorticoides, já que existem receptores para glicocorticoides dentro do mtDNA, dando a estas organelas a capacidade de resposta durante o estresse (Picard et al., 2014).

Durante o estresse crônico, a constante ligação entre receptores de glicocorticoides no mtDNA pode aumentar o nível de biogênese mitocondrial em um nível crítico, aumentando a desfragmentação da mitocôndria. Por sua vez,

desfragmentação da mitocôndria está associada diretamente no aumento do estresse oxidativo, inflamação e encurtamento de telômeros (Picard et al., 2014; Picard et al., 2015). Assim, existe a possibilidade de que a disfunção mitocondrial possa ser um mecanismo fisiopatológico de doença mental, já que o cérebro possui altas demandas de ATP para diversos processos neurais como plasticidade sináptica e a redução de energia pode acarretar em atrofia de áreas cerebrais importantes para regulação do comportamento (Streck et al., 2014; Torrell et al., 2013). Nesta perspectiva, estudos post-mortem demonstram menor número de cópias de mtDNA em células cerebrais de pacientes portadores do transtorno bipolar, esquizofrênico e depressivo, principalmente em áreas pré-frontais do cérebro, dando suporte à hipótese de que as deleções do mtDNA podem desempenhar um papel na fisiopatologia dos transtornos mentais (Kato et al, 1997; Inczedy-Farkas, 2012; Sequeira et al., 2015).

Além disso, foi avaliado pela primeira vez na literatura de estresse precoce a Nicotinamida adenina dinucleotídeo desidrogenase 4 (ND4). O ND4 é uma subunidade do complexo I da cadeia respiratória do mtDNA que se acredita pertencer à montagem mínima de proteínas nucleares necessária para produzir energia através da fosforilação oxidativa, sendo assim um importante regulador da função mitocondrial. Neste estudo, foi encontrado que o ND4 está associado negativamente com exposição traumática e que possui relação inversa com a erosão do telômero. Nesta análise exploratória, indica-se que o ND4 pode ser um fator importante na relação entre trauma, disfunção mitocondrial e envelhecimento celular acelerado. Poucos estudos avaliaram ND4 em amostras psiquiátricas, porém estes encontraram que pacientes portadores de depressão e esquizofrenia possuem menos cópias do gene ND4 em comparação com participantes controles (Shao et al., 2008; Torrell et al., 2013), indicando que o desgaste mitocondrial encontrado em pacientes psiquiátricos pode estar relacionado a esta subunidade da

cadeia respiratória da mitocôndria. No entanto, foram avaliados apenas dois marcadores potencias em explicar o encurtamento de telômeros neste estudo, e outros fatores biológicos devem estar envolvidos neste processo.

Verificou-se também que as crianças expostas a trauma tiveram maior erosão do CT em relação às crianças sem este histórico, sendo as médias de erosão de 406,65 e de 767,87 pares de base respectivamente. Na amostra total a média de erosão do telômero foi de 611,62 pares de base, perdendo, em média, 150 pares de base por ano. Este dado é relativamente difícil de comparar, por existirem poucos estudos com crianças e por esses estudos utilizarem métodos diversificados de análise (Ridout et al., 2017). Porém, em média estima-se que humanos perdem cerca de 40 pares de base por ano (Muezzinler, Zaineddin, & Brenner, 2013), porém, estes estudos são em maior número de adultos, onde a erosão do telômero é menor em comparação com os anos iniciais de vida (Zeichner et al., 1999). Além disso, os bebês recém-nascidos tendem a ter telômeros que variam em comprimento de cerca de 9.000 a 13.000 pares de bases (Okuda et al., 2002) e, considerando uma erosão de 40 pares de base por ano (Muezzinler et al., 2013), a amostra desse estudo teria em média 1.000 pares de base a menos do que seria estimado através da literatura. Muitos fatores podem explicar esta possível diferença, como diferenças metodológicas entre este e os demais estudos, porém não se descarta a possibilidade desta amostra ter maior erosão por se tratar de crianças em alto risco ambiental para transtornos mentais, em sua maioria de classe econômica baixa e residentes em um país em desenvolvimento. Fatores estes que contribuem para menores CT, mesmo tratando-se de crianças não expostas a maus-tratos (Ridout et al., 2017).

Apesar do CT ser influenciado pelo status econômico (Theall, Brett, Shirtcliff, Dunn, & Drury, 2013), não foi encontrada relação estatisticamente significativa entre

essas variáveis em nosso modelo de regressão. Porém, em modelos de correlação o status social foi associado inversamente proporcional ao CT e erosão do telômero, sugerindo que quanto menor o status social maior o impacto na erosão dos telômeros. Além disso, o CT tem um grande componente hereditário (Nordfjall, Larefalk, Lindgren, Holmberg, & Roos, 2005) e é altamente relacionado com diversos transtornos mentais (Darrow et al., 2016), porém, não foi identificada relação entre risco familiar para transtorno mental e tamanho de telômero. Entretanto, não foi avaliado neste estudo se o risco familiar era de origem paterna ou materna, o que pode interferir nos dados já que o mtDNA é herdado da mãe, sendo a maioria das doenças e mutações mitocondriais causadas por alterações no mtDNA são maternalmente herdadas (Giles, Blanc, Cann, & Wallace, 1980). Curiosamente algumas evidências apontam alta transmissão materna para esquizofrenia e bipolaridade, porém enquanto é possível que esta relação seja melhor explicada devido a fatores ambientais um outro estudo investigou a sequência de todos os genes do mtDNA em 6 pacientes esquizofrênicos e suas mães. Os autores deste estudo encontraram que 5 das 6 díades possuíam a mesma mutação no gene ND4 da mitocôndria (Martorell et al., 2006), relacionando o risco aumentado para doenças mentais com a disfunção mitocondrial.

Este estudo apresenta alguns pontos fortes, tais como o desenho prospectivo com crianças em alto risco ambiental e os alvos de envelhecimento celular selecionados. Já as limitações deste estudo concentram-se em não ter outras variáveis relacionados à ambientes tóxicos (por exemplo, violência urbana e poluição), além de não ter mensurado variáveis epigenéticas (tais como metilação de glicocorticoide) ou a própria atividade da telomerase que poderiam auxiliar a entender este complexo mecanismo de envelhecimento celular prematuro em crianças expostas aos maus-tratos.

Conclusão

Os resultados deste estudo levantam a questão do envelhecimento celular prematuro em crianças expostas à violência. Apresenta também que a redução do CT está associada a alterações no DNA mitocondrial, contribuindo para o conhecimento deste complexo mecanismo biológico de risco para psicopatologia. A erosão acelerada dos telômeros já pode ser observada na infância e pesquisas adicionais são importantes para fornecer condições básicas para esta hipótese, incluindo abordagens translacionais. Em uma perspectiva de longo prazo visando intervenções, promover a manutenção e a redução da erosão dos telômeros pode prevenir o risco aumentado para transtornos mentais nesta população.

Agradecimentos

Este trabalho foi apoiado pelo Instituto Nacional de Psiquiatria do Desenvolvimento para Crianças e Adolescentes, financiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP). Agradecemos também a toda equipe de pesquisa envolvida. Um especial agradecimento a todas as famílias que dispuseram de tempo e energia para participar desta pesquisa.

Referências

ABEP. (2010). Critério de Classificação Econômica Brasil. São Paulo Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa.

- Bauer, M. E., Jeckel, C. M., & Luz, C. (2009). The role of stress factors during aging of the immune system. *Ann N Y Acad Sci*, *1153*, 139-152. doi: 10.1111/j.1749-6632.2008.03966.x
- Bernadotte, A., Mikhelson, V. M., & Spivak, I. M. (2016). Markers of cellular senescence. Telomere shortening as a marker of cellular senescence. *Aging (Albany NY)*, *8*(1), 3-11. doi: 10.18632/aging.100871
- Bernstein, D. P., Stein, J. A., Newcomb, M. D., Walker, E., Pogge, D., Ahluvalia, T., . . . Zule, W. (2003). Development and validation of a brief screening version of the Childhood Trauma Questionnaire. *Child Abuse Negl*, *27*(2), 169-190.
- Blackburn, E. H. (2010). Telomeres and telomerase: the means to the end (Nobel lecture). *Angew Chem Int Ed Engl*, *49*(41), 7405-7421. doi: 10.1002/anie.201002387
- Blackburn, E. H., Epel, E. S., & Lin, J. (2015). Human telomere biology: A contributory and interactive factor in aging, disease risks, and protection. *Science*, *350*(6265), 1193-1198. doi: 10.1126/science.aab3389
- Bratic, A., & Larsson, N. G. (2013). The role of mitochondria in aging. *J Clin Invest*, *123*(3), 951-957. doi: 10.1172/JCI64125
- Darrow, S. M., Verhoeven, J. E., Revesz, D., Lindqvist, D., Penninx, B. W., Delucchi, K. L., . . . Mathews, C. A. (2016). The Association Between Psychiatric Disorders and Telomere Length: A Meta-Analysis Involving 14,827 Persons. *Psychosom Med*, *78*(7), 776-787. doi: 10.1097/PSY.0000000000000356
- Epel, E. S., Blackburn, E. H., Lin, J., Dhabhar, F. S., Adler, N. E., Morrow, J. D., & Cawthon, R. M. (2004). Accelerated telomere shortening in response to life stress. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *101*(49), 17312-17315. doi: 10.1073/pnas.0407162101
- Fang, X., Brown, D. S., Florence, C. S., & Mercy, J. A. (2012). The economic burden of child maltreatment in the United States and implications for prevention. *Child Abuse Negl*, *36*(2), 156-165. doi: 10.1016/j.chiabu.2011.10.006
- Gluckman, P. D., & Hanson, M. A. (2004). Living with the past: evolution, development, and patterns of disease. *Science*, *305*(5691), 1733-1736. doi: 10.1126/science.1095292
- Goodman, A., Heiervang, E., Collishaw, S., & Goodman, R. (2011). The 'DAWBA bands' as an ordered-categorical measure of child mental health: description and validation in British and Norwegian samples. *Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol*, *46*(6), 521-532. doi: 10.1007/s00127-010-0219-x
- Gredilla, R., Bohr, V. A., & Stevensner, T. (2010). Mitochondrial DNA repair and association with aging--an update. *Exp Gerontol*, *45*(7-8), 478-488. doi: 10.1016/j.exger.2010.01.017
- Harrison, E. L., & Baune, B. T. (2014). Modulation of early stress-induced neurobiological changes: a review of behavioural and pharmacological interventions in animal models. *Transl Psychiatry*, *4*, e390. doi: 10.1038/tp.2014.31
- Heim, C., Newport, D. J., Mletzko, T., Miller, A. H., & Nemeroff, C. B. (2008). The link between childhood trauma and depression: insights from HPA axis studies in humans. *Psychoneuroendocrinology*, *33*(6), 693-710. doi: 10.1016/j.psyneuen.2008.03.008
- Ivanova, M. Y., Dobrean, A., Dopfner, M., Erol, N., Fombonne, E., Fonseca, A. C., . . . Chen, W. J. (2007). Testing the 8-syndrome structure of the child behavior checklist in 30 societies. *J Clin Child Adolesc Psychol*, *36*(3), 405-417. doi: 10.1080/15374410701444363
- Lupien, S. J., McEwen, B. S., Gunnar, M. R., & Heim, C. (2009). Effects of stress throughout the lifespan on the brain, behaviour and cognition. *Nat Rev Neurosci*, *10*(6), 434-445. doi: 10.1038/nrn2639
- McEwen, B. S. (2003). Early life influences on life-long patterns of behavior and health. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev*, *9*(3), 149-154. doi: 10.1002/mrdd.10074
- Muezzinler, A., Zaineddin, A. K., & Brenner, H. (2013). A systematic review of leukocyte telomere length and age in adults. *Ageing Res Rev*, *12*(2), 509-519. doi: 10.1016/j.arr.2013.01.003

- Nordfjall, K., Larefalk, A., Lindgren, P., Holmberg, D., & Roos, G. (2005). Telomere length and heredity: Indications of paternal inheritance. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *102*(45), 16374-16378. doi: 10.1073/pnas.0501724102
- O'Callaghan, N. J., & Fenech, M. (2011). A quantitative PCR method for measuring absolute telomere length. *Biol Proced Online*, *13*, 3. doi: 10.1186/1480-9222-13-3
- Okuda, K., Bardeguet, A., Gardner, J. P., Rodriguez, P., Ganesh, V., Kimura, M., . . . Aviv, A. (2002). Telomere length in the newborn. *Pediatr Res*, *52*(3), 377-381. doi: 10.1203/00006450-200209000-00012
- Osellame, L. D., Blacker, T. S., & Duchon, M. R. (2012). Cellular and molecular mechanisms of mitochondrial function. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, *26*(6), 711-723. doi: 10.1016/j.beem.2012.05.003
- Picard, M., Juster, R. P., & McEwen, B. S. (2014). Mitochondrial allostatic load puts the 'gluc' back in glucocorticoids. *Nat Rev Endocrinol*, *10*(5), 303-310. doi: 10.1038/nrendo.2014.22
- Picard, M., McManus, M. J., Gray, J. D., Nasca, C., Moffat, C., Kopinski, P. K., . . . Wallace, D. C. (2015). Mitochondrial functions modulate neuroendocrine, metabolic, inflammatory, and transcriptional responses to acute psychological stress. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *112*(48), E6614-6623. doi: 10.1073/pnas.1515733112
- Price, L. H., Kao, H. T., Burgers, D. E., Carpenter, L. L., & Tyrka, A. R. (2013). Telomeres and early-life stress: an overview. *Biol Psychiatry*, *73*(1), 15-23. doi: 10.1016/j.biopsych.2012.06.025
- Rich-Edwards, J. W., Mason, S., Rexrode, K., Spiegelman, D., Hibert, E., Kawachi, I., . . . Wright, R. J. (2012). Physical and sexual abuse in childhood as predictors of early-onset cardiovascular events in women. *Circulation*, *126*(8), 920-927. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.111.076877
- Rich-Edwards, J. W., Spiegelman, D., Lividoti Hibert, E. N., Jun, H. J., Todd, T. J., Kawachi, I., & Wright, R. J. (2010). Abuse in childhood and adolescence as a predictor of type 2 diabetes in adult women. *Am J Prev Med*, *39*(6), 529-536. doi: 10.1016/j.amepre.2010.09.007
- Ridout, K. K., Carpenter, L. L., & Tyrka, A. R. (2016). The Cellular Sequelae of Early Stress: Focus on Aging and Mitochondria. *Neuropsychopharmacology*, *41*(1), 388-389. doi: 10.1038/npp.2015.301
- Ridout, K. K., Levandowski, M., Ridout, S. J., Gantz, L., Goonan, K., Palermo, D., . . . Tyrka, A. R. (2017). Early life adversity and telomere length: a meta-analysis. *Mol Psychiatry*. doi: 10.1038/mp.2017.26
- Ridout, K. K., Ridout, S. J., Price, L. H., Sen, S., & Tyrka, A. R. (2016). Depression and telomere length: A meta-analysis. *J Affect Disord*, *191*, 237-247. doi: 10.1016/j.jad.2015.11.052
- Sahin, E., & DePinho, R. A. (2012). Axis of ageing: telomeres, p53 and mitochondria. *Nat Rev Mol Cell Biol*, *13*(6), 397-404. doi: 10.1038/nrm3352
- Salum, G. A., DeSousa, D. A., Manfro, G. G., Pan, P. M., Gadelha, A., Brietzke, E., . . . Grassi-Oliveira, R. (2016). Measuring child maltreatment using multi-informant survey data: a higher-order confirmatory factor analysis. *Trends Psychiatry Psychother*, *38*(1), 23-32. doi: 10.1590/2237-6089-2015-0036
- Salum, G. A., Gadelha, A., Pan, P. M., Moriyama, T. S., Graeff-Martins, A. S., Tamanaha, A. C., . . . Rohde, L. A. (2015). High risk cohort study for psychiatric disorders in childhood: rationale, design, methods and preliminary results. *Int J Methods Psychiatr Res*, *24*(1), 58-73. doi: 10.1002/mpr.1459
- Scott, K. M., Smith, D. A., & Ellis, P. M. (2012). A population study of childhood maltreatment and asthma diagnosis: differential associations between child protection database versus retrospective self-reported data. *Psychosom Med*, *74*(8), 817-823. doi: 10.1097/PSY.0b013e3182648de4

- Shalev, I., Moffitt, T. E., Sugden, K., Williams, B., Houts, R. M., Danese, A., . . . Caspi, A. (2013). Exposure to violence during childhood is associated with telomere erosion from 5 to 10 years of age: a longitudinal study. *Mol Psychiatry*, *18*(5), 576-581. doi: 10.1038/mp.2012.32
- Streck, E. L., Goncalves, C. L., Furlanetto, C. B., Scaini, G., Dal-Pizzol, F., & Quevedo, J. (2014). Mitochondria and the central nervous system: searching for a pathophysiological basis of psychiatric disorders. *Rev Bras PsQuiatr*, *36*(2), 156-167.
- Teicher, M. H., & Samson, J. A. (2013). Childhood maltreatment and psychopathology: A case for ecophenotypic variants as clinically and neurobiologically distinct subtypes. *Am J Psychiatry*, *170*(10), 1114-1133. doi: 10.1176/appi.ajp.2013.12070957
- Theall, K. P., Brett, Z. H., Shirtcliff, E. A., Dunn, E. C., & Drury, S. S. (2013). Neighborhood disorder and telomeres: connecting children's exposure to community level stress and cellular response. *Soc Sci Med*, *85*, 50-58. doi: 10.1016/j.socscimed.2013.02.030
- Torrell, H., Montana, E., Abasolo, N., Roig, B., Gaviria, A. M., Vilella, E., & Martorell, L. (2013). Mitochondrial DNA (mtDNA) in brain samples from patients with major psychiatric disorders: gene expression profiles, mtDNA content and presence of the mtDNA common deletion. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, *162B*(2), 213-223. doi: 10.1002/ajmg.b.32134
- Tyrka, A. R., Carpenter, L. L., Kao, H. T., Porton, B., Philip, N. S., Ridout, S. J., . . . Price, L. H. (2015). Association of telomere length and mitochondrial DNA copy number in a community sample of healthy adults. *Exp Gerontol*, *66*, 17-20. doi: 10.1016/j.exger.2015.04.002
- Viola, T. W., Salum, G. A., Kluwe-Schiavon, B., Sanvicente-Vieira, B., Levandowski, M. L., & Grassi-Oliveira, R. (2016). The influence of geographical and economic factors in estimates of childhood abuse and neglect using the Childhood Trauma Questionnaire: A worldwide meta-regression analysis. *Child Abuse Negl*, *51*, 1-11. doi: 10.1016/j.chiabu.2015.11.019
- Wolkowitz, O. M., Epel, E. S., Reus, V. I., & Mellon, S. H. (2010). Depression gets old fast: do stress and depression accelerate cell aging? *Depress Anxiety*, *27*(4), 327-338. doi: 10.1002/da.20686
- Zhao, Y., Li, S., & Liu, H. (2017). Estimating the survival advantage based on telomere length and serum biomarkers of aging. *J Transl Med*, *15*(1), 166. doi: 10.1186/s12967-017-1267-8

Material Suplementar

Tabela suplementar 1

Tabela Suplementar 1. Matriz de correlação entre as variáveis.

	Idade_lb	Idade_sg	Trauma	Status_lb	Diagnóstico_lb	CBCL_lb	Telômero_lb	Erosão Telômero	mtDNA_lb	ND4_lb	Status_sg	Diagnóstico_sg	CBCL_sg	Telômero_sg	mtDNA_sg	ND4_sg
Idade_lb	1,00															
Idade_sg	0,93*	1,00														
Trauma	0,05*	0,10	1,00													
Status_lb	-0,05	-0,06	-0,19*	1,00												
Diagnóstico_lb	0,02	0,00	0,37*	-0,04	1,00											
CBCL_lb	0,03	0,02	0,39*	-0,13*	0,47*	1,00										
Telômero_lb	-0,33*	-0,27*	-0,20*	0,07	-0,12*	-0,10*	1,00									
Erosão Telômero	-0,01	0,06	0,40*	-0,15*	0,25*	0,15*	-0,23*	1,00								
mtDNA_lb	-0,09	-0,08	-0,14*	0,00	-0,06*	-0,07*	0,28*	0,03	1,00							
ND4_lb	-0,10	-0,07	-0,06	-0,01*	-0,02	-0,04	0,03	-0,09	-0,09	1,00						
Status_sg	-0,04	-0,06	-0,14*	0,66*	-0,04	-0,07	0,12	-0,03	-0,02	0,00	1,00					
Diagnóstico_sg	0,07	0,06*	0,24	-0,06	0,50	0,38	-0,12	0,25	-0,05	0,05	-0,05	1,00				
CBCL_sg	0,07	0,06*	0,42*	-0,18*	0,46*	0,74*	-0,15*	0,18*	-0,04	0,00	-0,12*	0,39*	1,00			
Telômero_sg	-0,32*	-0,30*	-0,41*	-0,14*	-0,24*	-0,18*	0,87*	-0,27*	0,27*	0,08	-0,14*	-0,23*	-0,19*	1,00		
mtDNA_sg	-0,08	-0,13*	-0,19*	0,05	-0,04	0,05	0,25*	-0,19*	0,57*	0,01	0,04	0,00	-0,07	0,35*	1,00	
ND4_sg	-0,11*	-0,18*	-0,15*	0,01	-0,06	-0,08	0,08	-0,19*	0,04	0,23*	0,01	-0,08	-0,05	0,17	0,15*	1,00

Nota: lb, linha de base; sg, seguimento. *, associação estatisticamente significativa.

Tabela suplementar 2. **Parâmetros das regressões do Modelo 1**

	Estimativa padronizada	Valor de p	
Regressões	CBCL_sg		
	Telômero_sg	-0.229	0.050
	Diagnóstico_lb	0.419	0.000
	Telômero_lb	-0.101	0.087
	Diagnóstico_sg		
	Telômero_sg	-0.320	0.003
	Diagnóstico_lb	0.455	0.000
	Telômero_lb	0.222	0.043
	Telômere_sg		
	Telômero_lb	0.858	0.000
	Idade_sg	-0.162	0.040
	Telomere_lb		
	Idade_lb	-0.304	0.028
	Diagnóstico_lb		
	Telômero_lb	-0.190	0.68
Parâmetros do modelo	CFI	0.967	
	TLI	0.927	
	RMSEA	0.060	

Nota: lb, linha de base; sg, seguimento

Tabela suplementar 3. **Parâmetros das regressões do Modelo 2.**

	Estimativa padronizada	Valor de p	
Regressões	CBCL_sg		
	Telômero_sg	-0.198	0.064
	Diagnóstico_lb	0.445	0.000
	Telômero_lb	-0.128	0.083
	mtDNA_sg	-0.001	0.992
	ND4_sg	-0.012	0.838
	Trauma	0.551	0.000
	Diagnóstico_sg		
	Telômero_sg	-0.276	0.011
	Diagnóstico_lb	0.467	0.000
	Telômero_lb	-0.186	0.079
	mtDNA_sg	0.071	0.200
	ND4_sg	-0.018	0.738
	Telômero_sg		
	Telômero_lb	0.843	0.000
	Idade_sg	-0.154	0.051
	Risco familiar	0.016	0.567
	Status social_lb	-0.015	0.602
	mtDNA_sg	0.322	0.004
	ND4_sg	0.132	0.026
	Telômero_lb		
	Idade_lb	-0.293	0.000
	Risco familiar	-0.060	0.319
	Status social_lb	-0.039	0.511
	mtDNA_lb	0.248	0.010
	ND4_lb	0.017	0.840
	Diagnóstico_lb		
	Telômero_lb	-0.106	0.089
	Telômero_lb		
	Trauma	-0.325	0.000
Parâmetros do modelo	CFI	0.863	
	TLI	0.854	
	RMSEA	0.082	

Nota: lb, linha de base; sg, seguimento

Tabela Suplementar 4. **Parâmetros das regressões do Modelo 3.**

		Estimativa padronizada	Valor de p
	Erosão telomérica		
Regressões	Telômero_lb	-0.397	0.000
	mtDNA_sg	-0.181	0.000
	ND4_sg	-0.102	0.033
	Idade	0.101	0.040
	Trauma	0.386	0.000
	Status social	-0.097	0.110
Parâmetros do modelo	CFI	0.958	
	TLI	0.931	
	RMSEA	0.085	

Nota: lb, linha de base; sg, seguimento

7. Considerações finais

Sabe-se que os maus-tratos contra as crianças constituem um forte fator de risco para o desenvolvimento de doença mental ao longo da vida (Teicher & Samson, 2013). Do ponto de vista da neurobiologia, esta exposição precoce reprograma o sistema de estresse do indivíduo afetando, por exemplo, a neurogênese e a poda sináptica em momentos críticos do desenvolvimento do sistema nervoso central (Lupien, 2009). Estas consequências estão relacionadas com à insuficiência de sinalização de glicocorticoides e processos de inflamação imunológica consequentes desta insuficiência, já que a inflamação é parte integrante da resposta ao estresse (reação de "luta ou fuga") e seus níveis exagerados podem afetar o desenvolvimento de células nervosas e da glia (Baumeister, Akhtar, Ciufolini, Pariante, & Mondelli, 2015). Além disso, mais recentemente um novo modelo explicativo para a associação entre trauma na infância e desfecho patológico tem sido desenvolvido. Este modelo inclui biomarcadores relacionados ao envelhecimento celular, dentro de uma hipótese que o estresse crônico tornaria o indivíduo “mais velho” do ponto de vista biológico (Ridout et al., 2017). Embora nos últimos 10 anos esta hipótese tenha começado a ser estudada de maneira empírica, Hans Selye em 1936 já acreditava que uma das “marcas” do estresse seria o “envelhecimento” do indivíduo, como na seguinte passagem:

*“Every stress leaves an indelible scar,
and the organism pays for its survival
after a stressful situation by becoming
a little older”.* Hans Selye, 1936

Atualmente, evidências emergentes mostram uma associação forte entre o estresse no início da vida e o envelhecimento celular prematuro, principalmente em relação ao encurtamento de telômeros que tem sido associado à morbidade e mortalidade de doenças relacionadas à idade avançada (Ridout, Carpenter, et al., 2016).

Desta maneira, esta tese teve como objetivo explorar alguns dos mecanismos biológicos chave frente a exposição traumática e a relação com desfecho psicopatológico. A partir dos dados apresentados nas sessões anteriores, os principais achados desta tese são que crianças, ainda em estágios iniciais da vida, apresentam repercussões biológicas em relação ao trauma sofrido. Estas repercussões são em relação a disfunção do cortisol em responder ao estresse e de um perfil de envelhecimento celular prematuro, medido através do tamanho do telômero, número de cópias de DNA mitocondrial e ND4. Para nosso conhecimento este foi o primeiro estudo demonstrando o papel de outros biomarcadores de envelhecimento na erosão dos telômeros associado ao trauma precoce. Demonstramos que o trauma está relacionado com maior chance de transtornos mentais e que os biomarcadores de envelhecimento possuem um importante papel nesta relação.

Por fim, a intenção desta tese foi apresentar achados que contribuam para a construção de conhecimento sobre maus-tratos na infância e que sinalizem possíveis caminhos por onde as futuras pesquisas podem trilhar para evolução da área. Pesquisas examinando os mecanismos biológicos pelos quais o trauma está associado ao desgaste dos telômeros pode ser um importante foco de intervenções que possam reverter esses efeitos deletérios. Ainda, importante refletir sobre o impacto social deste tema já que o Brasil é um dos países com altos índices de maus-tratos e com poucos recursos para

prevenção e intervenção, sendo necessário muito investimento em redução de fatores de risco e aumento de fatores de proteção contra maus-tratos infantis.

Referências

- ABEP. (2010). Critério de Classificação Econômica Brasil. São Paulo
- Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa.
- Andersen, S. L., & Teicher, M. H. (2008). Stress, sensitive periods and maturational events in adolescent depression. *Trends Neurosci*, *31*(4), 183-191. doi: 10.1016/j.tins.2008.01.004
- Bauer, M. E., Jeckel, C. M., & Luz, C. (2009). The role of stress factors during aging of the immune system. *Ann N Y Acad Sci*, *1153*, 139-152. doi: 10.1111/j.1749-6632.2008.03966.x
- Baumeister, D., Akhtar, R., Ciufolini, S., Pariante, C. M., & Mondelli, V. (2015). Childhood trauma and adulthood inflammation: a meta-analysis of peripheral C-reactive protein, interleukin-6 and tumour necrosis factor-alpha. *Mol Psychiatry*. doi: 10.1038/mp.2015.67
- Bernadotte, A., Mikhelson, V. M., & Spivak, I. M. (2016). Markers of cellular senescence. Telomere shortening as a marker of cellular senescence. *Aging (Albany NY)*, *8*(1), 3-11. doi: 10.18632/aging.100871
- Bernstein, D. P., Stein, J. A., Newcomb, M. D., Walker, E., Pogge, D., Ahluvalia, T., . . . Zule, W. (2003). Development and validation of a brief screening version of the Childhood Trauma Questionnaire. *Child Abuse Negl*, *27*(2), 169-190.
- Blackburn, E. H. (2010). Telomeres and telomerase: the means to the end (Nobel lecture). *Angew Chem Int Ed Engl*, *49*(41), 7405-7421. doi: 10.1002/anie.201002387
- Blackburn, E. H., Epel, E. S., & Lin, J. (2015). Human telomere biology: A contributory and interactive factor in aging, disease risks, and protection. *Science*, *350*(6265), 1193-1198. doi: 10.1126/science.aab3389
- Bratic, A., & Larsson, N. G. (2013). The role of mitochondria in aging. *J Clin Invest*, *123*(3), 951-957. doi: 10.1172/JCI64125
- Carr, C. P., Martins, C. M., Stingel, A. M., Lemgruber, V. B., & Juruena, M. F. (2013). The role of early life stress in adult psychiatric disorders: a systematic review according to childhood trauma subtypes. *J Nerv Ment Dis*, *201*(12), 1007-1020. doi: 10.1097/NMD.0000000000000049
- Carrion, V. G., Weems, C. F., Ray, R. D., Glaser, B., Hessel, D., & Reiss, A. L. (2002). Diurnal salivary cortisol in pediatric posttraumatic stress disorder. *Biol Psychiatry*, *51*(7), 575-582.
- Cicchetti, D., & Lynch, M. (1993). Toward an ecological/transactional model of community violence and child maltreatment: consequences for children's development. *Psychiatry*, *56*(1), 96-118.
- Cicchetti, D., & Toth, S. L. (1995). A developmental psychopathology perspective on child abuse and neglect. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*, *34*(5), 541-565. doi: 10.1097/00004583-199505000-00008
- Danese, A., & McEwen, B. S. (2012). Adverse childhood experiences, allostasis, allostatic load, and age-related disease. *Physiol Behav*, *106*(1), 29-39. doi: 10.1016/j.physbeh.2011.08.019
- Dantzer, R., O'Connor, J. C., Freund, G. G., Johnson, R. W., & Kelley, K. W. (2008). From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain. *Nat Rev Neurosci*, *9*(1), 46-56. doi: 10.1038/nrn2297

- Darrow, S. M., Verhoeven, J. E., Revesz, D., Lindqvist, D., Penninx, B. W., Delucchi, K. L., . . . Mathews, C. A. (2016). The Association Between Psychiatric Disorders and Telomere Length: A Meta-Analysis Involving 14,827 Persons. *Psychosom Med*, *78*(7), 776-787. doi: 10.1097/PSY.0000000000000356
- De Bellis, M. D. (2001). Developmental traumatology: the psychobiological development of maltreated children and its implications for research, treatment, and policy. *Dev Psychopathol*, *13*(3), 539-564.
- De Bellis, M. D., & Zisk, A. (2014). The biological effects of childhood trauma. *Child Adolesc Psychiatr Clin N Am*, *23*(2), 185-222, vii. doi: 10.1016/j.chc.2014.01.002
- Dong, M., Anda, R. F., Felitti, V. J., Dube, S. R., Williamson, D. F., Thompson, T. J., . . . Giles, W. H. (2004). The interrelatedness of multiple forms of childhood abuse, neglect, and household dysfunction. *Child Abuse Negl*, *28*(7), 771-784. doi: 10.1016/j.chiabu.2004.01.008
- Epel, E. S., Blackburn, E. H., Lin, J., Dhabhar, F. S., Adler, N. E., Morrow, J. D., & Cawthon, R. M. (2004). Accelerated telomere shortening in response to life stress. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *101*(49), 17312-17315. doi: 10.1073/pnas.0407162101
- Epel, Elissa S. (2009). Telomeres in a life-span perspective: A new "psychobiomarker"? *Current Directions in Psychological Science*, *18*(1), 6-10. doi: 10.1111/j.1467-8721.2009.01596.x
- Fang, X., Brown, D. S., Florence, C. S., & Mercy, J. A. (2012). The economic burden of child maltreatment in the United States and implications for prevention. *Child Abuse Negl*, *36*(2), 156-165. doi: 10.1016/j.chiabu.2011.10.006
- Frodl, T., & O'Keane, V. (2013). How does the brain deal with cumulative stress? A review with focus on developmental stress, HPA axis function and hippocampal structure in humans. *Neurobiol Dis*, *52*, 24-37. doi: 10.1016/j.nbd.2012.03.012
- Giles, R. E., Blanc, H., Cann, H. M., & Wallace, D. C. (1980). Maternal inheritance of human mitochondrial DNA. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *77*(11), 6715-6719.
- Glaser, R., & Kiecolt-Glaser, J. K. (2005). Stress-induced immune dysfunction: implications for health. *Nat Rev Immunol*, *5*(3), 243-251. doi: 10.1038/nri1571
- Gluckman, P. D., & Hanson, M. A. (2004). Living with the past: evolution, development, and patterns of disease. *Science*, *305*(5691), 1733-1736. doi: 10.1126/science.1095292
- Goodman, A., Heiervang, E., Collishaw, S., & Goodman, R. (2011). The 'DAWBA bands' as an ordered-categorical measure of child mental health: description and validation in British and Norwegian samples. *Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol*, *46*(6), 521-532. doi: 10.1007/s00127-010-0219-x
- Gredilla, R., Bohr, V. A., & Stevnsner, T. (2010). Mitochondrial DNA repair and association with aging--an update. *Exp Gerontol*, *45*(7-8), 478-488. doi: 10.1016/j.exger.2010.01.017
- Harlow, H. F., & Suomi, S. J. (1970). Nature of love. *Am Psychol*, *25*(2), 161-168.
- Harrison, E. L., & Baune, B. T. (2014). Modulation of early stress-induced neurobiological changes: a review of behavioural and pharmacological interventions in animal models. *Transl Psychiatry*, *4*, e390. doi: 10.1038/tp.2014.31
- Hart, J., Gunnar, M., & Cicchetti, D. (1995). Salivary cortisol in maltreated children: Evidence of relations between neuroendocrine activity and social competence. *Development and Psychopathology*, *7*(1), 15.
- Heim, C., Newport, D. J., Mletzko, T., Miller, A. H., & Nemeroff, C. B. (2008). The link between childhood trauma and depression: insights from HPA axis studies in humans. *Psychoneuroendocrinology*, *33*(6), 693-710. doi: 10.1016/j.psyneuen.2008.03.008
- Hillis, S., Mercy, J., Amobi, A., & Kress, H. (2016). Global Prevalence of Past-year Violence Against Children: A Systematic Review and Minimum Estimates. *Pediatrics*, *137*(3), e20154079. doi: 10.1542/peds.2015-4079
- Hoen, P. W., de Jonge, P., Na, B. Y., Farzaneh-Far, R., Epel, E., Lin, J., . . . Whooley, M. A. (2011). Depression and leukocyte telomere length in patients with coronary heart disease:

- data from the Heart and Soul Study. *Psychosom Med*, 73(7), 541-547. doi: 10.1097/PSY.0b013e31821b1f6e
- Ivanova, M. Y., Dobrean, A., Dopfner, M., Erol, N., Fombonne, E., Fonseca, A. C., . . . Chen, W. J. (2007). Testing the 8-syndrome structure of the child behavior checklist in 30 societies. *J Clin Child Adolesc Psychol*, 36(3), 405-417. doi: 10.1080/15374410701444363
- Kempe, C. H., Silverman, F. N., Steele, B. F., Droegemueller, W., & Silver, H. K. (1962). The battered-child syndrome. *JAMA*, 181, 17-24.
- Krug, EG., Dahlberg, LL., Mercy, JA., Zwi, AB., & Lozano, R. (2002). World report on violence and health.
- Lupien, S. J. (2009). Brains under stress. *Can J Psychiatry*, 54(1), 4-5. doi: 10.1177/070674370905400103
- Lupien, S. J., Maheu, F., Tu, M., Fiocco, A., & Schramek, T. E. (2007). The effects of stress and stress hormones on human cognition: Implications for the field of brain and cognition. *Brain Cogn*, 65(3), 209-237. doi: 10.1016/j.bandc.2007.02.007
- Lupien, S. J., McEwen, B. S., Gunnar, M. R., & Heim, C. (2009). Effects of stress throughout the lifespan on the brain, behaviour and cognition. *Nat Rev Neurosci*, 10(6), 434-445. doi: 10.1038/nrn2639
- Lynch, M. A. (1985). Child abuse before Kempe: an historical literature review. *Child Abuse Negl*, 9(1), 7-15.
- Martorell, L., Segues, T., Folch, G., Valero, J., Joven, J., Labad, A., & Vilella, E. (2006). New variants in the mitochondrial genomes of schizophrenic patients. *Eur J Hum Genet*, 14(5), 520-528. doi: 10.1038/sj.ejhg.5201606
- McCrary, E., De Brito, S. A., & Viding, E. (2010). Research review: the neurobiology and genetics of maltreatment and adversity. *J Child Psychol Psychiatry*, 51(10), 1079-1095. doi: 10.1111/j.1469-7610.2010.02271.x
- McEwen, B. S. (2003). Early life influences on life-long patterns of behavior and health. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev*, 9(3), 149-154. doi: 10.1002/mrdd.10074
- McEwen, B. S. (2007). Physiology and neurobiology of stress and adaptation: central role of the brain. *Physiol Rev*, 87(3), 873-904. doi: 10.1152/physrev.00041.2006
- McLaughlin, K. A., Sheridan, M. A., & Lambert, H. K. (2014). Childhood adversity and neural development: deprivation and threat as distinct dimensions of early experience. *Neurosci Biobehav Rev*, 47, 578-591. doi: 10.1016/j.neubiorev.2014.10.012
- Meewisse, M. L., Reitsma, J. B., de Vries, G. J., Gersons, B. P., & Olff, M. (2007). Cortisol and post-traumatic stress disorder in adults: systematic review and meta-analysis. *Br J Psychiatry*, 191, 387-392. doi: 10.1192/bjp.bp.106.024877
- Muezzinler, A., Zaineddin, A. K., & Brenner, H. (2013). A systematic review of leukocyte telomere length and age in adults. *Ageing Res Rev*, 12(2), 509-519. doi: 10.1016/j.arr.2013.01.003
- Nordfjall, K., Larefalk, A., Lindgren, P., Holmberg, D., & Roos, G. (2005). Telomere length and heredity: Indications of paternal inheritance. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 102(45), 16374-16378. doi: 10.1073/pnas.0501724102
- O'Callaghan, N. J., & Fenech, M. (2011). A quantitative PCR method for measuring absolute telomere length. *Biol Proced Online*, 13, 3. doi: 10.1186/1480-9222-13-3
- Okuda, K., Bardeguet, A., Gardner, J. P., Rodriguez, P., Ganesh, V., Kimura, M., . . . Aviv, A. (2002). Telomere length in the newborn. *Pediatr Res*, 52(3), 377-381. doi: 10.1203/00006450-200209000-00012
- Osellame, L. D., Blacker, T. S., & Duchon, M. R. (2012). Cellular and molecular mechanisms of mitochondrial function. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 26(6), 711-723. doi: 10.1016/j.beem.2012.05.003
- Palma-Gudiel, H., & Fananas, L. (2017). An integrative review of methylation at the serotonin transporter gene and its dialogue with environmental risk factors, psychopathology

- and 5-HTTLPR. *Neurosci Biobehav Rev*, 72, 190-209. doi: 10.1016/j.neubiorev.2016.11.011
- Picard, M., Juster, R. P., & McEwen, B. S. (2014). Mitochondrial allostatic load puts the 'gluc' back in glucocorticoids. *Nat Rev Endocrinol*, 10(5), 303-310. doi: 10.1038/nrendo.2014.22
- Picard, M., McManus, M. J., Gray, J. D., Nasca, C., Moffat, C., Kopinski, P. K., . . . Wallace, D. C. (2015). Mitochondrial functions modulate neuroendocrine, metabolic, inflammatory, and transcriptional responses to acute psychological stress. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 112(48), E6614-6623. doi: 10.1073/pnas.1515733112
- Price, L. H., Kao, H. T., Burgers, D. E., Carpenter, L. L., & Tyrka, A. R. (2013). Telomeres and early-life stress: an overview. *Biol Psychiatry*, 73(1), 15-23. doi: 10.1016/j.biopsych.2012.06.025
- Rich-Edwards, J. W., Mason, S., Rexrode, K., Spiegelman, D., Hibert, E., Kawachi, I., . . . Wright, R. J. (2012). Physical and sexual abuse in childhood as predictors of early-onset cardiovascular events in women. *Circulation*, 126(8), 920-927. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.111.076877
- Rich-Edwards, J. W., Spiegelman, D., Lividoti Hibert, E. N., Jun, H. J., Todd, T. J., Kawachi, I., & Wright, R. J. (2010). Abuse in childhood and adolescence as a predictor of type 2 diabetes in adult women. *Am J Prev Med*, 39(6), 529-536. doi: 10.1016/j.amepre.2010.09.007
- Ridout, K. K., Carpenter, L. L., & Tyrka, A. R. (2016). The Cellular Sequelae of Early Stress: Focus on Aging and Mitochondria. *Neuropsychopharmacology*, 41(1), 388-389. doi: 10.1038/npp.2015.301
- Ridout, K. K., Levandowski, M., Ridout, S. J., Gantz, L., Goonan, K., Palermo, D., . . . Tyrka, A. R. (2017). Early life adversity and telomere length: a meta-analysis. *Mol Psychiatry*. doi: 10.1038/mp.2017.26
- Ridout, K. K., Ridout, S. J., Price, L. H., Sen, S., & Tyrka, A. R. (2016). Depression and telomere length: A meta-analysis. *J Affect Disord*, 191, 237-247. doi: 10.1016/j.jad.2015.11.052
- Sahin, E., & DePinho, R. A. (2012). Axis of ageing: telomeres, p53 and mitochondria. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 13(6), 397-404. doi: 10.1038/nrm3352
- Salum, G. A., DeSousa, D. A., Manfro, G. G., Pan, P. M., Gadelha, A., Brietzke, E., . . . Grassi-Oliveira, R. (2016). Measuring child maltreatment using multi-informant survey data: a higher-order confirmatory factor analysis. *Trends Psychiatry Psychother*, 38(1), 23-32. doi: 10.1590/2237-6089-2015-0036
- Salum, G. A., Gadelha, A., Pan, P. M., Moriyama, T. S., Graeff-Martins, A. S., Tamanaha, A. C., . . . Rohde, L. A. (2015). High risk cohort study for psychiatric disorders in childhood: rationale, design, methods and preliminary results. *Int J Methods Psychiatr Res*, 24(1), 58-73. doi: 10.1002/mpr.1459
- Scott, K. M., Smith, D. A., & Ellis, P. M. (2012). A population study of childhood maltreatment and asthma diagnosis: differential associations between child protection database versus retrospective self-reported data. *Psychosom Med*, 74(8), 817-823. doi: 10.1097/PSY.0b013e3182648de4
- Selye, H. (1985). The nature of stress. *Basal Facts*, 7(1), 3-11.
- Shalev, I., Moffitt, T. E., Sugden, K., Williams, B., Houts, R. M., Danese, A., . . . Caspi, A. (2013). Exposure to violence during childhood is associated with telomere erosion from 5 to 10 years of age: a longitudinal study. *Mol Psychiatry*, 18(5), 576-581. doi: 10.1038/mp.2012.32
- Shao, L., Martin, M. V., Watson, S. J., Schatzberg, A., Akil, H., Myers, R. M., . . . Vawter, M. P. (2008). Mitochondrial involvement in psychiatric disorders. *Ann Med*, 40(4), 281-295. doi: 10.1080/07853890801923753
- Shea, A., Walsh, C., Macmillan, H., & Steiner, M. (2005). Child maltreatment and HPA axis dysregulation: relationship to major depressive disorder and post traumatic stress

- disorder in females. *Psychoneuroendocrinology*, *30*(2), 162-178. doi: 10.1016/j.psyneuen.2004.07.001
- Streck, E. L., Goncalves, C. L., Furlanetto, C. B., Scaini, G., Dal-Pizzol, F., & Quevedo, J. (2014). Mitochondria and the central nervous system: searching for a pathophysiological basis of psychiatric disorders. *Rev Bras Psiquiatr*, *36*(2), 156-167.
- Tarullo, A. R., & Gunnar, M. R. (2006). Child maltreatment and the developing HPA axis. *Horm Behav*, *50*(4), 632-639. doi: 10.1016/j.yhbeh.2006.06.010
- Teicher, M. H., Anderson, C. M., Ohashi, K., & Polcari, A. (2014). Childhood maltreatment: altered network centrality of cingulate, precuneus, temporal pole and insula. *Biol Psychiatry*, *76*(4), 297-305. doi: 10.1016/j.biopsych.2013.09.016
- Teicher, M. H., & Samson, J. A. (2013). Childhood maltreatment and psychopathology: A case for ecophenotypic variants as clinically and neurobiologically distinct subtypes. *Am J Psychiatry*, *170*(10), 1114-1133. doi: 10.1176/appi.ajp.2013.12070957
- Teicher, M. H., Samson, J. A., Anderson, C. M., & Ohashi, K. (2016). The effects of childhood maltreatment on brain structure, function and connectivity. *Nat Rev Neurosci*, *17*(10), 652-666. doi: 10.1038/nrn.2016.111
- Ten Bense, R. W., Rheinberger, M. M., & Radbill, S. X. (1997). Children in a world of violence: the roots of child maltreatment *The battered child* (pp. 3-28).
- Theall, K. P., Brett, Z. H., Shirtcliff, E. A., Dunn, E. C., & Drury, S. S. (2013). Neighborhood disorder and telomeres: connecting children's exposure to community level stress and cellular response. *Soc Sci Med*, *85*, 50-58. doi: 10.1016/j.socscimed.2013.02.030
- Torrell, H., Montana, E., Abasolo, N., Roig, B., Gaviria, A. M., Vilella, E., & Martorell, L. (2013). Mitochondrial DNA (mtDNA) in brain samples from patients with major psychiatric disorders: gene expression profiles, mtDNA content and presence of the mtDNA common deletion. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, *162B*(2), 213-223. doi: 10.1002/ajmg.b.32134
- Tractenberg, S. G., Levandowski, M. L., de Azeredo, L. A., Orso, R., Roithmann, L. G., Hoffmann, E. S., . . . Grassi-Oliveira, R. (2016). An overview of maternal separation effects on behavioural outcomes in mice: Evidence from a four-stage methodological systematic review. *Neurosci Biobehav Rev*, *68*, 489-503. doi: 10.1016/j.neubiorev.2016.06.021
- Tyrka, A. R., Burgers, D. E., Philip, N. S., Price, L. H., & Carpenter, L. L. (2013). The neurobiological correlates of childhood adversity and implications for treatment. *Acta Psychiatr Scand*, *128*(6), 434-447. doi: 10.1111/acps.12143
- Tyrka, A. R., Carpenter, L. L., Kao, H. T., Porton, B., Philip, N. S., Ridout, S. J., . . . Price, L. H. (2015). Association of telomere length and mitochondrial DNA copy number in a community sample of healthy adults. *Exp Gerontol*, *66*, 17-20. doi: 10.1016/j.exger.2015.04.002
- Tyrka, A. R., Wier, L., Price, L. H., Ross, N., Anderson, G. M., Wilkinson, C. W., & Carpenter, L. L. (2008). Childhood parental loss and adult hypothalamic-pituitary-adrenal function. *Biol Psychiatry*, *63*(12), 1147-1154. doi: 10.1016/j.biopsych.2008.01.011
- van Bodegom, M., Homberg, J. R., & Henckens, Mjag. (2017). Modulation of the Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis by Early Life Stress Exposure. *Front Cell Neurosci*, *11*, 87. doi: 10.3389/fncel.2017.00087
- Viola, T. W., Salum, G. A., Kluwe-Schiavon, B., Sanvicente-Vieira, B., Levandowski, M. L., & Grassi-Oliveira, R. (2016). The influence of geographical and economic factors in estimates of childhood abuse and neglect using the Childhood Trauma Questionnaire: A worldwide meta-regression analysis. *Child Abuse Negl*, *51*, 1-11. doi: 10.1016/j.chiabu.2015.11.019
- Weaver, I. C., Cervoni, N., Champagne, F. A., D'Alessio, A. C., Sharma, S., Seckl, J. R., . . . Meaney, M. J. (2004). Epigenetic programming by maternal behavior. *Nat Neurosci*, *7*(8), 847-854. doi: 10.1038/nn1276

- Wolkowitz, O. M., Epel, E. S., Reus, V. I., & Mellon, S. H. (2010). Depression gets old fast: do stress and depression accelerate cell aging? *Depress Anxiety, 27*(4), 327-338. doi: 10.1002/da.20686
- Yehuda, R. (2002). Post-traumatic stress disorder. *N Engl J Med, 346*(2), 108-114. doi: 10.1056/NEJMr012941
- Zeichner, S. L., Palumbo, P., Feng, Y., Xiao, X., Gee, D., Sleasman, J., . . . Dimitrov, D. (1999). Rapid telomere shortening in children. *Blood, 93*(9), 2824-2830.
- Zhao, Y., Li, S., & Liu, H. (2017). Estimating the survival advantage based on telomere length and serum biomarkers of aging. *J Transl Med, 15*(1), 166. doi: 10.1186/s12967-017-1267-8
- Zorn, J. V., Schur, R. R., Boks, M. P., Kahn, R. S., Joels, M., & Vinkers, C. H. (2017). Cortisol stress reactivity across psychiatric disorders: A systematic review and meta-analysis. *Psychoneuroendocrinology, 77*, 25-36. doi: 10.1016/j.psyneuen.2016.11.036

Anexo I

Produção bibliográfica realizada no período do doutorado e relacionada com a temática investigada.

As publicações em anexo foram realizadas durante o período de doutorado (2014-2017) e são relacionadas a temática desta tese de doutorado. Estas publicações dividem-se basicamente nos seguintes tópicos: (1) Estudos onde investigamos o processo de senescência em decorrência do estresse precoce, demonstrando alterações imunológicas e celulares; (2) Estudos sugerindo a existência de um ecofenótipo de doença relacionado ao estresse precoce, principalmente demonstrando a heterogeneidade no perfil biológico e apresentação clínica em dependentes de cocaína e crack; (3) Estudos oriundos da mesma coorte que pesquisamos nesta tese, onde foi investigado se o estresse precoce está ligado a alterações em mediadores inflamatórios e oxidativos em crianças; e (4) Estudos sobre a fenomenologia do estresse precoce, como por exemplo a investigação de fatores geográficos e econômicos que podem influenciar as variações das estimativas de maus-tratos infantis no mundo. Na lista de publicações consta o ano, o qualis e o fator de impacto de cada artigo publicado.

Ano	Nome revista	Referência completa	Qualis CAPES	Fator de Impacto (IF)
2017	Molecular Psychiatry - Nature	Ridout KK, Levandowski M, Ridout SJ, Gantz L, Goonan K, Palermo D, Price LH & Tyrka AR. (2017). Early life adversity and telomere length: a meta-analysis. <i>Molecular Psychiatry</i> .	A1	13.314

Molecular Psychiatry (2017) 00, 1–14

© 2017 Macmillan Publishers Limited, part of Springer Nature. All rights reserved 1359-4184

www.nature.com/mp

ORIGINAL ARTICLE

Early life adversity and telomere length: a meta-analysis

KK Ridout^{1,2}, M Levandowski³, SJ Ridout^{1,2}, L Gantz¹, K Goonan¹, D Palermo², LH Price^{1,2} and AR Tyrka^{1,2}

Early adversity, in the form of abuse, neglect, socioeconomic status and other adverse experiences, is associated with poor physical and mental health outcomes. To understand the biologic mechanisms underlying these associations, studies have evaluated the relationship between early adversity and telomere length, a marker of cellular senescence. Such results have varied in regard to the size and significance of this relationship. Using meta-analytic techniques, we aimed to clarify the relationship between early adversity and telomere length while exploring factors affecting the association, including adversity type, timing and study design. A comprehensive search in July 2016 of PubMed/MEDLINE, PsycINFO and Web of Science identified 2462 studies. Multiple reviewers appraised studies for inclusion or exclusion using *a priori* criteria; 3.9% met inclusion criteria. Data were extracted into a structured form; the Newcastle-Ottawa Scale assessed study quality, validity and bias. Forty-one studies ($N=30\,773$) met inclusion criteria. Early adversity and telomere length were significantly associated (Cohen's d effect size = -0.35 ; 95% CI, -0.46 to -0.24 ; $P < 0.0001$). Sensitivity analyses revealed no outlier effects. Adversity type and timing significantly impacted the association with telomere length ($P < 0.0001$ and $P = 0.0025$, respectively). Subgroup and meta-regression analyses revealed that medication use, medical or psychiatric conditions, case-control vs longitudinal study design, methodological factors, age and smoking significantly affected the relationship. Comprehensive evaluations of adversity demonstrated more extensive telomere length changes. These results suggest that early adversity may have long-lasting physiological consequences contributing to disease risk and biological aging.

Molecular Psychiatry advance online publication, 21 March 2017; doi:10.1038/mp.2017.26

INTRODUCTION

Early life adversity is a major public health problem experienced by over 19.4 million children.^{1,2} Children with a history of early adversity are at a greater risk of developing poor physical and mental health outcomes, including diabetes, asthma, depression, anxiety and post-traumatic stress disorders.^{3–5} These conditions are often chronic and severe, exacting costs in excess of \$124 billion through suffering, disability, treatment and loss of productivity over the lifespan.⁶ Investigation into the biologic mechanisms by which early adversity increases risk for poor health outcomes provides evidence of accelerated biologic aging through shortened telomere length.^{7–9}

Telomeres are DNA–protein complexes comprising tandem TTAGGG repeats ranging from a few to 15 kilobases in length that are essential for maintaining chromosomal and genetic stability.¹⁰ Telomeres shorten with each DNA replication cycle and, as such, telomere length serves as a biomarker of biological aging.¹¹ When telomeres become critically short, cells may enter senescence or undergo apoptosis.^{9,12} Telomere length is influenced by stress and inflammation.⁹ Many chronic illnesses involve prolonged states of stress and/or inflammation, which may contribute to associations between telomere length and somatic conditions, including heart disease, diabetes, asthma, obesity, chronic pain, irritable bowel syndrome and neurodegenerative disorders.^{11,13–16} Proposed mechanisms underlying associations between stress and telomere length include mitochondrial dysfunction and telomerase inactivation due to heightened and prolonged stress signaling.^{9,17,18} In addition to reflecting biologic stress, telomere attrition often precedes chronic disease development, suggesting that telomere

erosion may be a causal link connecting early adversity and later disease.¹²

Telomere attrition early in life may be particularly detrimental,¹⁹ leading to premature development of stress-related health disorders.^{9,12} Less than a decade ago, preliminary evidence suggested that childhood adversity was associated with telomere shortening.²⁰ Since then, numerous studies have examined associations between early adversity and telomere length.^{9,14} Shortened telomeres have been linked to adversity at multiple developmental stages^{18,21–23} and after several types of adverse exposures.^{24–26} Some investigations suggest a cumulative and dose-dependent negative relationship between early adversity and telomere length.^{27,28} However, numerous studies have not observed shorter telomeres after early adversity.^{29–43}

Several issues arise when assessing the existing body of knowledge relating telomeres and early adversity. Most studies have modest sample sizes, limiting the ability to draw definitive conclusions. Additionally, variability in study design, methodology, subject characteristics, early adversity type and developmental timing limits the generalizability of available data. This meta-analysis aims to clarify the relationship between early adversity and telomere length by means of a systematic examination of the literature, comparing subjects with early adversity exposure to those without, and to identify moderators of the association with telomere length. We hypothesized that early adversity would be associated with reduced telomere length, and that this relationship would be modified by study and subject characteristics.

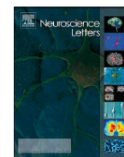
Ano	Nome revista	Referência completa	Qualis CAPES	Fator de Impacto (IF)
2017	Neuroscience Letters	Orso, R., Creutzberg, K. C., Centeno-Silva, A., Carapeços, M. S., Levandowski, M. L., Wearick-Silva, L. E., ... & Grassi-Oliveira, R. (2017). NFκB1 and NFκB2 gene expression in the prefrontal cortex and hippocampus of early life stressed mice exposed to cocaine-induced conditioned place preference during adolescence. <i>Neuroscience Letters</i> , 658, 27-31.	A2	2.180



Contents lists available at [ScienceDirect](https://www.sciencedirect.com)

Neuroscience Letters

journal homepage: www.elsevier.com/locate/neulet



Research article

NFκB1 and NFκB2 gene expression in the prefrontal cortex and hippocampus of early life stressed mice exposed to cocaine-induced conditioned place preference during adolescence



Rodrigo Orso^{a,c,1}, Kerstin Camile Creutzberg^{a,1}, Anderson Centeno-Silva^a,
Matheus Silva Carapeços^a, Mateus Luz Levandowski^{a,b}, Luis Eduardo Wearick-Silva^{a,c},
Thiago Wendt Viola^{a,c}, Rodrigo Grassi-Oliveira^{a,b,c,*}

^a Developmental Cognitive Neuroscience Lab (DCNL), Brain Institute of Rio Grande do Sul (InsCer), Pontifical Catholic University of Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre, RS, Brazil

^b Graduate Program in Psychology, Pontifical Catholic University of Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre, RS, Brazil

^c Graduate Program in Pediatrics and Child Health, Pontifical Catholic University of Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre, RS, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:

Cocaine
Conditioned place preference
Early life stress
Maternal separation
NFκB mRNA

ABSTRACT

Neuro-immune pathways contribute to the onset and maintenance of cocaine-seeking behaviors, particularly through activation of NFκB signaling in the brain. However, the molecular mechanisms of this relationship are still not completely understood, especially considering the effects of early life stress, a major risk factor to cocaine addiction. The goal of this study was to investigate NFκB1 and NFκB2 gene expression in the prefrontal cortex (PFC) and hippocampus of mice exposed to early life stress and cocaine-induced conditioned place preference (CPP) within adolescence. Male BALB/c mice were randomly assigned to one of four groups: animal facility reared (AFR) with or without CPP training; maternal separation (MS) with or without CPP training. The MS animals were subjected to daily 3-h maternal separation from postnatal day (PND) 2 to 15. CPP was performed following three sequential phases: habituation (PND 34), conditioning (PND 35 to PND 44) and post-conditioning test (PND 45). Gene expression was determined by qPCR. NFκB1 mRNA levels were decreased in the PFC of animals exposed to CPP compared to drug-naïve animals, while no difference was detected regarding rearing conditions. NFκB2 expression was upregulated in the PFC of animals exposed to CPP when compared to drug-naïve animals, particularly in animals exposed to MS with higher CPP scores. No significant effects were detected in the hippocampus. Cortical NFκB2 up-regulation may be involved with the enhanced motivational salience for cocaine-paired cues observed in animals exposed to MS during adolescence.

1. Introduction

Early life stress can promote immune alterations across lifespan, including increased innate immunity/inflammation [1]. Following chronic stress, up-regulation of an array of genes involved in pro-inflammatory pathways has been documented in both peripheral immune cell populations and brain-specific cells, such as astrocytes and microglia [2]. Among possible pathways, Toll-like Receptors (TLRs) are the first line of defense against invading microorganisms and are

responsible for triggering innate immune responses. TLRs expression are also modulated by stress exposure, inducing activation of the transcription factor nuclear factor-kappa B (NFκB) [3].

The NFκB regulates the expression of many pro-inflammatory cytokine genes (e.g., Interleukin-1, Interleukin-6, Tumor Necrosis Factor-Alpha) and it is also involved in the processes of synaptic plasticity and memory formation [4,5]. Therefore, chronic activation of this innate immune pathway can enhance inflammation in brain areas associated with mental disorders, and, consequently, contributing to the

Ano	Nome revista	Referência completa	Qualis CAPES	Fator de Impacto (IF)
2017	Medical Hypotheses	Bandinelli, L. P., Levandowski, M. L., & Grassi-Oliveira, R. (2017). The childhood maltreatment influences on breast cancer patients: A second wave hit model hypothesis for distinct biological and behavioral response. <i>Medical Hypotheses</i> , 108, 86-93.	B1	1.066



Contents lists available at ScienceDirect

Medical Hypotheses

journal homepage: www.elsevier.com/locate/mehy



The childhood maltreatment influences on breast cancer patients: A second wave hit model hypothesis for distinct biological and behavioral response



Lucas Poitevin Bandinelli, Mateus Luz Levandowski, Rodrigo Grassi-Oliveira *

^a Developmental Cognitive Neuroscience Lab (DCNL), Pontifical Catholic University of Rio Grande do Sul (PUCRS), RS, Brazil

^b Post-Graduate Program in Psychology, Pontifical Catholic University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre (PUCRS), RS, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:
Received 27 December 2016
Accepted 6 August 2017

Keywords:
Child abuse
Childhood maltreatment
Early life stress
Cancer
Breast cancer
Second wave hit

ABSTRACT

Stress and cancer are two complex situations involving different biological and psychological mechanisms. Their relationship have long been studied, and there is evidence of the impact stress has on both, development and disease progression. Furthermore, early stress has been studied as an important factor associated to this relationship, since its impacts on the immune, endocrine and cognitive development throughout life is already known. Therefore, understanding early stress as a first wave of stress in life is necessary in order to explore a possible second wave hit model. From this perspective, we believe that breast cancer can be understood as a second wave of stress during development and that, in addition to the first wave, can cause important impacts on the response to cancer treatment, such as increased chances of disease progression and distinct behavioral responses. In this article we propose a second wave hit hypothesis applied to breast cancer and its implications on the immune, endocrine and cognitive systems, through mechanisms that involve the HPA axis and subsequent activations of stress responses.

© 2017 Elsevier Ltd. All rights reserved.

Introduction

The health burden of childhood maltreatment

Childhood maltreatment is a complex social phenomenon that occurs as sexual, physical, or emotional abuse, as well as emotional or physical neglect [1]. Those environmental exposures are considered risk factors for the development of diseases, impairment during several life stages, and even death [2]. The "Global Burden Of Disease Studies", one of the biggest studies about the impact of diseases in the world, accounted 0,2 millions of death around the world because of sexual abuse, and 0,9% disability-adjusted life years (DALYS) [3]. Even though the study has not considered any other type of childhood maltreatment besides sexual abuse, it provides enough evidence to support that the extreme and prolonged exposure to stressors during the first years in the life can lead to long term deleterious effects on health [4–6].

Therefore, adults with a history of childhood abuse are at a greater risk of developing diseases than the ones who have not felt its impact. Among adults who have been exposed to any kind of childhood maltreatment, there is a high prevalence of health problems, such as cardiovascular diseases [7], diabetes [8], autoimmune diseases [9], cognitive deficits [10], chronic fatigue and cancer [11,12], and higher risk for premature death (about 20 years earlier than those without histories of maltreatment) [13], as well as telomere length reduction [14]. Those diseases can develop throughout a lifetime through the complex interactions between genes and the environment, which will be further discussed in the paper.

Among the risks for the development of diseases associated to childhood maltreatment, cancer has received little attention, noticeable by the few number of studies and the mixed results. Some studies show that negative childhood experiences are associated to higher risk of cancer development [15,16], while others shown no association at all [17,18]. A more recent study suggests that childhood maltreatment could be consider a risk factor for the development of adult cancer before 50 years old (OR: 2.1) [19].

Another suggestion presented in the literature regarding maltreatment is about its role in the modification of many diseases clinical presentation. Some studies have shown that among

* Corresponding author at: Developmental Cognitive Neuroscience Lab (DCNL), Pontifical Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Avenida Ipiranga, 6681, Prédio 11, Sala 936, Partenon, Porto Alegre, RS, Brazil.

E-mail address: rodrigo.grassi@pucrs.br (R. Grassi-Oliveira).

Ano	Nome revista	Referência completa	Qualis CAPES	Fator de Impacto (IF)
2017	European Child & Adolescent Psychiatry	Mansur RB, Cunha GR, Asevedo E, Zugman A, Rios AC, Salum GA, Pan PM, Gadelha A, Levandowski ML , Belangero SI, Manfro GG, Stertz L, Kauer-Sant'anna M, Miguel EC, Bressan RA, Mari JJ, Grassi-Oliveira R & Brietzke E. (2017). Perinatal complications, lipid peroxidation, and mental health problems in a large community pediatric sample. <i>European Child & Adolescent Psychiatry</i> , 1-9.	A2	3.339

Eur Child Adolesc Psychiatry
DOI 10.1007/s00787-016-0914-6



ORIGINAL CONTRIBUTION

Perinatal complications, lipid peroxidation, and mental health problems in a large community pediatric sample

Rodrigo B. Mansur^{1,2,3} · Graciele R. Cunha^{1,2} · Elson Asevedo^{1,2} · André Zugman^{1,2} · Adiel C. Rios^{1,2} · Giovanni A. Salum^{1,4} · Pedro M. Pan^{1,2} · Ary Gadelha^{1,2} · Mateus L. Levandowski^{1,5} · SÍntia I. Belangero^{1,2} · Gisele G. Manfro^{1,4} · Laura Stertz^{1,4,6} · Márcia Kauer-Sant'anna^{1,4} · Eurípedes C. Miguel^{1,7} · Rodrigo A. Bressan^{1,2} · Jair J. Mari^{1,2} · Rodrigo Grassi-Oliveira^{1,5} · Elisa Brietzke^{1,2}

Received: 27 May 2016 / Accepted: 21 October 2016
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2016

Abstract Replicated evidence indicates that perinatal complications are associated with increased markers of oxidative stress and with mental health problems in children. However, there are fewer reports on the impact of perinatal complications in later phases of development. We aimed to investigate the estimated effects of perinatal complications on levels of lipid peroxidation and on psychopathology in children and adolescents. The study is part of the High Risk Cohort Study for Psychiatric Disorders; the population was composed by 554 students, 6–14 years of age. Serum levels of malondialdehyde, a product of lipid peroxidation, were measured by the TBARS method. A household interview with parents and caregivers was conducted and included inquiries about perinatal history, the Child Behavior

Checklist (CBCL), and parent's evaluation, using the Mini International Psychiatric Interview (MINI). We created a cumulative risk index, conceptualized as each individual's cumulative exposure to perinatal complications. Results indicate that perinatal complications were associated with higher levels of TBARS. After adjusting for age, gender, socio-economic status, CBCL total problems score, parental psychopathology, and childhood maltreatment, children exposed to 3 or more perinatal complications had an 26.9% (95% CI 9.9%, 46.6%) increase in TBARS levels, relative to the unexposed group. Exploratory mediation analysis indicated that TBARS levels partially mediated the association between perinatal complications and externalizing problems. In conclusion, an adverse intrauterine and/or early life environment, as proxied by the cumulative exposure to perinatal complications, was independently associated with higher levels of lipid peroxidation in children and adolescents.

✉ Rodrigo B. Mansur
rodrigomansur71@uol.com.br

¹ National Institute of Developmental Psychiatry for Children and Adolescents, CNPq, Sao Paulo, Brazil

² PRISMA-Program for Recognition and Intervention in Individuals in At-Risk Mental States, Department of Psychiatry, Universidade Federal de São Paulo

Keywords Oxidative stress · Lipid peroxidation · Perinatal complications · Adverse early life environment · Childhood · Psychopathology

Ano	Nome revista	Referência completa	Qualis CAPES	Fator de Impacto (IF)
2016	Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry	Levandowski ML , Tractenberg SG, de Azeredo LA, De Nardi T, Rovaris DL, Bau CH, Rizzo LB, Maurya PK, Brietzke E, Tyrka AR, & Grassi-Oliveira, R. (2016). Crack cocaine addiction, early life stress and accelerated cellular aging among women. <i>Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry</i> , 71, 83-89.	A1	4.361



Contents lists available at ScienceDirect

Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry

journal homepage: www.elsevier.com/locate/pnp



Crack cocaine addiction, early life stress and accelerated cellular aging among women



Mateus Luz Levandowski ^{a,1}, Saulo Gantes Tractenberg ^{a,1}, Lucas Araújo de Azeredo ^a, Tatiana De Nardi ^a, Diego L. Rovaris ^b, Claiton H.D. Bau ^b, Lucas B. Rizzo ^c, Pawan Kumar Maurya ^c, Elisa Brietzke ^c, Audrey R. Tyrka ^d, Rodrigo Grassi-Oliveira ^{a,*}

^a Developmental Cognitive Neuroscience Lab (DCNL), Biomedical Research Institute (IPB), Pontifical Catholic University of Rio Grande do Sul (PUCRS), Brazil

^b Department of Genetics, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Brazil

^c Research Group in Behavioral Neuroscience of Bipolar Disorder, Department of Psychiatry, Federal University of São Paulo (Unifesp), São Paulo, SP, Brazil

^d Mood Disorders Research Program and Laboratory for Clinical and Translational Neuroscience, Department of Psychiatry and Human Behavior, Brown University, USA

ARTICLE INFO

Article history:

Received 19 April 2016
Received in revised form 19 June 2016
Accepted 19 June 2016
Available online 21 June 2016

Keywords:

Aging
Child abuse
Cocaine
Senescence
Substance-related disorders
Telomere

ABSTRACT

Background: Early life stress (ELS) and addiction are related to age-related diseases and telomere shortening. However, the role of telomere length (TL) in crack cocaine addiction remains unknown. The purpose of this study was to investigate the TL in a sample of crack cocaine dependent-women who reported an ELS history and in a community-based sample of elderly women as a reference group for senescence.

Methods: This study included treatment seeking crack cocaine dependents women ($n = 127$) and elderly women without a psychiatric diagnosis (ELD, $n = 49$). The crack cocaine sample was divided in two groups according to their Childhood Trauma Questionnaire (CTQ) scores: presence of history of childhood abuse and neglect (CRACK-ELS) and absence of ELS history (CRACK). TL was assessed by T/S ratio obtained from peripheral blood DNA using quantitative PCR assay.

Results: CRACK and CRACK-ELS subjects exhibited shortened TL in comparison to the ELD group, despite their younger age. Among crack cocaine sample, CRACK-ELS group had significantly shorter telomeres than the CRACK group. Correlation analysis within crack cocaine group indicated that TL was negatively correlated with emotional abuse scores.

Conclusions: These results support previous findings associating telomere shortening with both ELS and drug addiction. This study suggests new evidence of a distinct biological phenotype for drug-dependent women with ELS. The results support the biological senescence hypothesis underpinning ELS experience.

© 2016 Elsevier Inc. All rights reserved.

1. Introduction

The burden of cocaine addiction is estimated to be around 16 disability adjusted life years (DALYs) per 100,000 individuals (Deegenhardt et al., 2014), and an increased mortality rate of up to 8 times higher than that expected in a similar population without drug abuse history (Barrio et al., 2013). Long-term cocaine use contributes to important health problems, including coronary artery disease (Deegenhardt et al., 2011), major depressive disorder (Herrero et al., 2008), cognitive decline (Verdejo-Garcia et al., 2007; Viola et al., 2015), and, in addition, cocaine use has been associated with increased peripheral inflammatory mediators (Araos et al., 2015; Fox et al., 2012; Levandowski et al.,

2014) and age-related atrophy in grey matter volume (Ersche et al., 2013) both of which are commonly seen in association with aging and age-related disorders (Sander et al., 2008).

Prior reports have linked cocaine abuse and other substances (i.e., alcohol and heroin) with acceleration of normal aging, suggesting a role for immunosenescence and accelerated telomere shortening (Beach et al., 2014; Cheng et al., 2013; Pavanello et al., 2011; Reece, 2007; Yang et al., 2013). Telomeres are long nucleotide repeats located at the end of chromosomes that preserve genetic information by mitigating non-homologous recombination and nucleolytic degradation (Blackburn, 2005). Telomere shortening is a natural physiologic process that occurs in aging (Harley et al., 1990), and is also associated with several age-related diseases, such as Alzheimer Disease (Panossian et al., 2003), major depression (Ridout et al., 2016), cardiovascular (Yang et al., 2009) and autoimmune disorders (Hohensinner et al., 2011).

Recently, two studies found accelerated cellular aging in heroin addicts. One study found lower telomerase activity, a reverse transcriptase

* Corresponding author at: Faculdade de Psicologia, Psychology Department, Pontifical Catholic University of Rio Grande do Sul, Avenida Ipiranga, 6681, Prédio 11, Sala 936, Partenon, Porto Alegre, Brazil.

¹ These authors contributed equally to this work.

Ano	Nome revista	Referência completa	Qualis CAPES	Fator de Impacto (IF)
2016	Psychiatry and clinical neurosciences	Coelho R, Levandowski ML, Mansur RB, da Cunha GR, Asevedo E, Zugman A, Salum GA, Gadelha A, Pan PM, Rizzo LB, Manfro G, Mari JJ, Rohde LA, Miguel EC, Bressan RA, Brietzke E & Grassi-Oliveira R. (2016). Serum copeptin in children exposed to maltreatment. <i>Psychiatry and clinical neurosciences</i> , 70(10), 434-441.	B1	2.025

Psychiatry and Clinical Neurosciences 2016; 70: 434-441

doi:10.1111/pcn.12412

Regular Article

Serum copeptin in children exposed to maltreatment

Roberta Coelho, MS, PhD,¹ Mateus L. Levandowski, MS,^{1,3} Rodrigo B. Mansur, MS, MD,^{3,7} Graciele Rodrigues da Cunha, MD,^{3,4,5} Elson Asevedo, MS, MD,^{3,4,5} André Zugman, MD,^{3,4,5} Giovanni A. Salum, MD, PhD,^{2,3} Ary Gadelha, MD, PhD,^{3,4,5} Pedro M. Pan, MD, PhD,^{3,4,5} Lucas B. Rizzo, BA,^{4,5} Gisele Manfro, MD, PhD,^{2,3} Jair J. Mari, MD, PhD,^{3,4,5} Luis A. Rohde, MD, PhD,^{2,3,6} Eurípedes C. Miguel, MD, PhD,^{2,3} Rodrigo A. Bressan, MD, PhD,^{3,4,5} Elisa Brietzke, MD, PhD^{3,4,5} and Rodrigo Grassi-Oliveira, MD, PhD^{1,3*}

¹Developmental Cognitive Neuroscience Lab (DCNL), Pontifical Catholic University of Rio Grande do Sul (PUCRS),

²Department of Psychiatry, Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, ³National Institute of Developmental Psychiatry for Children and Adolescents, CNPq, ⁴Department of Psychiatry, Federal University of São Paulo (UNIFESP), ⁵Interdisciplinary Laboratory of Clinical Neurosciences (LINC), UNIFESP, ⁶Institute of Psychiatry (IPq), University of São Paulo (USP), Sao Paulo, Brazil, and ⁷Mood Disorders Psychopharmacology Unit (MDPU), University Health Network, University of Toronto, Toronto, Canada

Aim: Childhood maltreatment (CM) has been related to a persistent reprogramming of stress-response. Copeptin is a marker of hypothalamic-pituitary-adrenal axis activation; however, few studies have examined copeptin levels in children exposed to CM. The aim of this study was to compare serum copeptin levels in children reporting child abuse and/or neglect and children with no history of CM.

Methods: This study included 65 children with a positive history of moderate to severe CM, as reported by themselves and their parent(s) during a clinical interview, and 71 children with no history of CM as a comparison group. CM was considered moderate to severe based on the child-reported frequency of being exposed to events related to sexual abuse, physical abuse, emotional abuse, emotional neglect, and/or physical neglect. Child psychopathology symptoms were assessed using the Child

Behavior Checklist (CBCL). We measured serum copeptin concentration using enzyme-linked immunosorbent assay.

Results: Children exposed to CM exhibited higher levels of serum copeptin compared to children without CM when controlling for sex, age, and psychiatric morbidity. The CBCL total score, including internalizing and externalizing symptoms, was higher in children with CM. We found no correlation between copeptin and CBCL scores for internalizing symptoms and externalizing symptoms.

Conclusion: CM is associated with copeptin serum levels independently of age, sex, and symptom severity. Copeptin is a promising new biomarker for children with a history of abuse and/or neglect.

Key words: child abuse, child psychopathology, copeptin, hypothalamic-pituitary-adrenal axis, stress.

EARLY LIFE ADVERSITY, such as childhood maltreatment (CM), has been shown to influence

the occurrence of a variety of physical and mental health problems later in life.¹⁻⁵ A substantial body of evidence indicates that the risk for health problems is partially mediated by the impact of these adverse experiences on the development of neuronal circuits and homeostatic systems.^{5,6} Longstanding changes in response to stress have been postulated as a central phenomenon of metabolic and neurochemical cascades that will influence risk for

*Correspondence: Rodrigo Grassi-Oliveira, MD, PhD, Developmental Cognitive Neuroscience Lab, Pontifical Catholic University of Rio Grande do Sul, Avenida Ipiranga, 6681, Prédio 11, Sala 928 - Partenon, Porto Alegre, Rio Grande do Sul 90619-900, Brazil. Email: rodrigo.grassi@pucrs.br

Received 10 November 2015; revised 16 May 2016; accepted 3 June 2016.

Ano	Nome revista	Referência completa	Qualis CAPES	Fator de Impacto (IF)
2016	Drug and Alcohol Dependence	Levandowski, M. L., Viola, T. W., Prado, C. H., Wieck, A., Bauer, M. E., Brietzke, E. & Grassi-Oliveira, R. (2016). Distinct behavioral and immunoendocrine parameters during crack cocaine abstinence in women reporting childhood abuse and neglect. <i>Drug and Alcohol Dependence</i> , 167, 140-148.	A2	3.349



Contents lists available at ScienceDirect

Drug and Alcohol Dependence

journal homepage: www.elsevier.com/locate/drugalcddep



Full length article

Distinct behavioral and immunoendocrine parameters during crack cocaine abstinence in women reporting childhood abuse and neglect



Mateus Luz Levandowski^{a,b}, Thiago Wendt Viola^{a,c}, Carine Hartmann Prado^d,
Andrea Wieck^d, Moisés Evandro Bauer^d, Elisa Brietzke^e, Rodrigo Grassi-Oliveira^{a,b,c,*}

^a Developmental Cognitive Neuroscience Lab (DCNL), Pontifical Catholic University of Rio Grande do Sul (PUCRS), RS, Brazil

^b Post-Graduate Program in Psychology, Pontifical Catholic University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre (PUCRS), RS, Brazil

^c Post-Graduate Program in Pediatrics and Children Health's, Pontifical Catholic University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre (PUCRS), RS, Brazil

^d Laboratory of Immunosenescence, Institute of Biomedical Research, Pontifical Catholic University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre (PUCRS), RS, Brazil

^e Research Group in Behavioral Neuroscience of Bipolar Disorder, Department of Psychiatry, Federal University of São Paulo Unifesp, São Paulo, SP, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 25 April 2016

Received in revised form 2 August 2016

Accepted 4 August 2016

Available online 11 August 2016

Keywords:

Child abuse
Cocaine
Cytokines
Inflammation
Stress
Substance-use disorders

ABSTRACT

Aim: To assess plasma levels of cortisol and cytokines between cocaine-dependent women with and without childhood maltreatment (CM) history during cocaine detoxification treatment.

Method: We assessed immunoendocrine and clinical parameters of 108 crack cocaine female users during 3 weeks of inpatient detoxification treatment, and 24 healthy women to obtain reference values. Women with (CM+, n = 53) or without (CM-, n = 55) CM history were identified answering the Childhood Trauma Questionnaire (CTQ). Blood samples and clinical assessment were collected before lunch during the first, second and third week post-treatment admission. Flow cytometry was used to assess TNF- α , IFN- γ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A plasma levels and ELISA assay was used to measure plasma cortisol levels.

Results: At baseline, lower Th1 and Th17-related cytokines levels and higher Th2 cytokines levels were observed in crack cocaine users compared with reference values. Cytokines levels of cocaine dependents gradually became closer to reference values along detoxification treatment. However, when CM+ and CM- groups were compared, increased levels of IL-6, IL-4 and TNF- α across time were observed in CM+ group only. Additionally, a Th1/Th2 immune imbalance was observed within CM+ group, which was negatively correlated with the severity of the crack withdrawal. Finally, loading trauma exposure severity, immunoendocrine and clinical parameters in factor analysis, we identified three clusters of observed variables during detoxification: (1) systemic immunity and trauma exposure, (2) pro-inflammatory immunity and (3) behavior

Conclusion: Our results suggest the existence of an immunological phenotype variant associated with CM exposure during crack cocaine detoxification of women.

© 2016 Elsevier Ireland Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Substantial evidence indicates that childhood maltreatment is associated with increased risk of substance use disorders (Enoch, 2011; Giordano et al., 2014; Teicher and Samson, 2013). For example, childhood sexual abuse exposure in women increases the risk of alcohol or illicit drug dependence 6.6-fold (Kendler et al., 2000). These effects of early-life stress (ELS) exposure are particularly evident in individuals with patterns of heavy substance consumption,

as in the case of cocaine use disorder (Shin et al., 2013). Moreover, cocaine dependents with a history of childhood neglect might exhibit more severe depressive and abstinence symptoms during drug withdrawal (Francke et al., 2013; Rovaris et al., 2015), partially contributing to a complex neurobiological derangement including hypothalamo-pituitary-adrenal (HPA) axis and dopamine system dysfunctions (Gerra et al., 2009; Shin et al., 2013).

Considering that ELS effects on development include the reprogramming activity of the HPA axis and subsequently the stress response (Grassi-Oliveira et al., 2008) and the effects of stress on the immune system (Priyadarshini and Aich, 2012), a promising pathway for biomarker searches regarding the link between ELS and cocaine addiction includes the identification of peripheral immune mediators. Thus, it has been reported that childhood

* Corresponding author at: Faculdade de Psicologia, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Avenida Ipiranga, 6681, Prédio 11, Sala 936, Partenon, Porto Alegre, RS Brazil.

E-mail address: rodrigo.grassi@pucrs.br (R. Grassi-Oliveira).

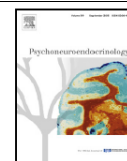
Ano	Nome revista	Referência completa	Qualis CAPES	Fator de Impacto (IF)
2016	Psychoneuroendocrinology	Mansur RB, Cunha GR, Asevedo E, Zugman A, Rizzo LB, Grassi-Oliveira R, Levandowski ML, Gadelha A, Pan PM, Teixeira AL, McIntyre RS, Mari JJ, Rohde LA, Miguel EC, Bressan RA & Brietzke E (2016). Association of serum interleukin-6 with mental health problems in children exposed to perinatal complications and social disadvantage. <i>Psychoneuroendocrinology</i> , 71, 94-101.	A1	4.704



Contents lists available at ScienceDirect

Psychoneuroendocrinology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/psyneuen



Association of serum interleukin-6 with mental health problems in children exposed to perinatal complications and social disadvantage



Rodrigo B. Mansur^{a,b,c,*}, Graciele R. Cunha^{a,b}, Elson Asevedo^{a,b}, André Zugman^{a,b}, Lucas B. Rizzo^{a,b,d}, Rodrigo Grassi-Oliveira^{a,e}, Mateus L. Levandowski^{a,e}, Ary Gadelha^{a,b}, Pedro M. Pan^{a,b}, Antônio L. Teixeira^{a,f}, Roger S. McIntyre^c, Jair J. Mari^{a,b}, Luís A. Rohde^{a,g}, Eurípedes C. Miguel^{a,h}, Rodrigo A. Bressan^{a,b}, Elisa Brietzke^{a,b}

^a National Institute of Developmental Psychiatry for Children and Adolescents, CNPq, São Paulo, Brazil

^b PRISMA—Program for Recognition and Intervention in Individuals in At-Risk Mental State, Department of Psychiatry, Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo, Brazil

^c Mood Disorders Psychopharmacology Unit (MDPU), University Health Network, University of Toronto, Toronto, Canada

^d Department of Psychiatry, University of Tuebingen, Tuebingen, Germany

^e Institute of Biomedical Research, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil

^f Interdisciplinary Laboratory of Medical Investigation, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil

^g Department of Psychiatry, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil

^h Department of Psychiatry, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 18 March 2016

Received in revised form 18 April 2016

Accepted 16 May 2016

Keywords:

Familial mood disorder

Perinatal complications

Social disadvantage

Mental health problems

Inflammation

Children

ABSTRACT

There is consistent evidence that inflammation is involved in mental disorders pathogenesis. Herein, using data from the High Risk Cohort Study for Psychiatric Disorders, we investigated the relationship between parental mood disorders (PMD), environmental factors, serum interleukin-6 (IL6) and mental health problems in children aged 6–12. We measured the serum levels of IL6 in 567 children. Information related to socio-demographic characteristics, mental health problems and multiple risk factors, as well as parent's psychiatric diagnosis, was captured. We evaluated two groups of environmental risk factors (i.e. perinatal complications and social disadvantage) using a cumulative risk model. Results showed that higher serum levels of IL6 were associated with PMD (RR = 1.072, $p = 0.001$), perinatal complications (RR = 1.022, $p = 0.013$) and social disadvantage (RR = 1.024, $p = 0.021$). There was an interaction between PMD and social disadvantage (RR = 1.141, $p = 0.021$), as the effect of PMD on IL6 was significantly higher in children exposed to higher levels of social disadvantage. Moreover, there was a positive correlation between IL6 and mental health problems (RR = 1.099, $p = 0.026$), which was moderated by exposure to perinatal complications or social disadvantage (RR = 1.273, $p = 0.015$ and RR = 1.179, $p = 0.048$, respectively). In conclusions, there is evidence of a differential inflammatory activation in children with PMD and exposure to environmental risk factors, when compared to matched peers. Systemic inflammation may be involved in the pathway linking familial risk and mental health problems.

© 2016 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Accumulating evidence indicates that mental disorders are highly prevalent among children and adolescents, with studies estimating a prevalence of 13–20% (Carter et al., 2010; Paula et al., 2014; Petresco et al., 2014). Mental health problems in childhood are associated with significant psychosocial impairment (Carter

et al., 2010; Petresco et al., 2014) and often persist into adulthood (Reef et al., 2011, 2010). The high prevalence of mental disorders highlights the importance of early detection and illness pre-emption/prevention by identifying proximal and distal risk factors, as well as pathophysiological mechanisms (Insel, 2014). Low-grade inflammation has been proposed as a key component of mental health problems' pathogenesis (Dantzer et al., 2008; Glassman and Miller, 2007; Raison et al., 2006). Longitudinal studies have linked higher levels of circulating inflammatory markers such as interleukin 6 (IL-6) and C-reactive protein (CRP), with subsequent risk of depression and psychosis (Khandaker et al., 2014;

* Corresponding author at: 399 Bathurst Street, MP 9-325, Toronto, Ontario M5T 2S8, Canada.

E-mail address: rodrigomansur71@uol.com.br (R.B. Mansur).

Ano	Nome revista	Referência completa	Qualis CAPES	Fator de Impacto (IF)
2016	Neuroscience & Biobehavioral Reviews	Tractenberg SG, Levandowski ML, de Azeredo LA, Orso R, Roithmann LG, Hoffmann ES, Brenhouse H, & Grassi-Oliveira, R. (2016). An overview of maternal separation effects on behavioural outcomes in mice: Evidence from a four-stage methodological systematic review. <i>Neuroscience & Biobehavioral Reviews</i> , 68, 489-503.	A1	8.580



Contents lists available at ScienceDirect

Neuroscience and Biobehavioral Reviews

journal homepage: www.elsevier.com/locate/neubiorev



Review article

An overview of maternal separation effects on behavioural outcomes in mice: Evidence from a four-stage methodological systematic review



Saulo G. Tractenberg^a, Mateus L. Levandowski^a, Lucas Araújo de Azeredo^{a,b}, Rodrigo Orso^a, Laura G. Roithmann^a, Emerson S. Hoffmann^a, Heather Brenhouse^c, Rodrigo Grassi-Oliveira^{a,d,*}

^a Developmental Cognitive Neuroscience Lab (DCNL), Post-Graduate Program in Psychology, Pontifical Catholic University of Rio Grande do Sul (PUCRS), 6681 Ipiranga Avenue, Building 11, Room 928 Porto Alegre, RS, Brazil

^b Post-Graduate Program in Medicine and Health Sciences, Pontifical Catholic University of Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre, RS, Brazil

^c Department of Psychology, Northeastern University, 125 Nightingale Hall, 360 Huntington Avenue, Boston, MA 02115, USA

^d Post-Graduate Program in Pediatrics and Children Health's, Pontifical Catholic University of Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre, RS, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 19 January 2016
Received in revised form 13 May 2016
Accepted 16 June 2016
Available online 18 June 2016

Keywords:

Early life stress
Maternal separation
Maternal deprivation
Early postnatal manipulation
Mice
Rodent
Methodological review

ABSTRACT

Early life stress (ELS) developmental effects have been widely studied by preclinical researchers. Despite the growing body of evidence from ELS models, such as the maternal separation paradigm, the reported results have marked inconsistencies. The maternal separation model has several methodological pitfalls that could influence the reliability of its results. Here, we critically review 94 mice studies that addressed the effects of maternal separation on behavioural outcomes. We also discuss methodological issues related to the heterogeneity of separation protocols and the quality of reporting methods. Our findings indicate a lack of consistency in maternal separation effects: major studies of behavioural and biological phenotypes failed to find significant deleterious effects. Furthermore, we identified several specific variations in separation methodological procedures. These methodological variations could contribute to the inconsistency of maternal separation effects by producing different degrees of stress exposure in maternal separation-reared pups. These methodological problems, together with insufficient reporting, might lead to inaccurate and unreliable effect estimates in maternal separation studies.

© 2016 Elsevier Ltd. All rights reserved.

Contents

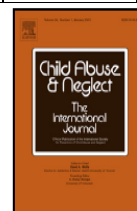
1. Background	490
2. Methods	491
2.1. Search strategy	491
2.2. Data extraction and methodological information assessment	491
2.3. Maternal separation description and conceptual definition	492
3. Results	492
3.1. Description of characteristics and summary of main findings from maternal separation studies	493
3.2. Quality of methodological reports in maternal separation studies	493
3.3. Maternal separation effects on biological and behavioural phenotypes	493
4. Discussion	496
4.1. Inconsistencies in MS studies and possible effects on findings	498
4.2. Quality of methodological reports in maternal separation studies	499
4.3. Maternal separation effects on biological and behavioural phenotypes	500
4.4. Limitations of the current review	500

Ano	Nome revista	Referência completa	Qualis CAPES	Fator de Impacto (IF)
2016	Child abuse & neglect	Viola, T. W., Salum, G. A., Kluwe-Schiavon, B., Sanvicente-Vieira, B., Levandowski, M. L. , & Grassi-Oliveira, R. (2016). The influence of geographical and economic factors in estimates of childhood abuse and neglect using the Childhood Trauma Questionnaire: a worldwide meta-regression analysis. <i>Child abuse & neglect</i> , 51, 1-11.	A1	2.397



Contents lists available at ScienceDirect

Child Abuse & Neglect



Research article

The influence of geographical and economic factors in estimates of childhood abuse and neglect using the Childhood Trauma Questionnaire: A worldwide meta-regression analysis[☆]



Thiago Wendt Viola^a, Giovanni Abrahão Salum^b, Bruno Kluwe-Schiavon^a, Breno Sanvicente-Vieira^a, Mateus Luz Levandowski^a, Rodrigo Grassi-Oliveira^{a,*}

^a Developmental Cognitive Neuroscience Research Group (GNCD), Pontifical Catholic University of Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre, Brazil

^b National Institute of Developmental Psychiatry for Children and Adolescents (INCT-CNPq), Porto Alegre, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 24 August 2015

Received in revised form

19 November 2015

Accepted 24 November 2015

Available online 15 December 2015

Keywords:

Child abuse

Meta-regression

Meta-analysis

Childhood maltreatment

Child neglect

Epidemiology

ABSTRACT

This multilevel meta-analysis examined the effects of geographical and economic factors on worldwide childhood maltreatment estimates measured by the Childhood Trauma Questionnaire (CTQ) short-form. The primary outcome extracted was continuous scores on the CTQ subscales – emotional abuse, physical abuse, sexual abuse, emotional neglect, and physical neglect – and total score. Geographical, economical and methodological variables were extracted for use as covariates in meta-regression models. A literature search identified 288 studies suitable for the CTQ total score analysis ($N = 59,692$) and 189 studies suitable for maltreatment subtype analysis ($N = 44,832$). We found that Europe and Asia were associated with lower CTQ estimates while South America presented the highest estimates among continents. Specifically, studies from China, Netherlands and United Kingdom presented the lowest maltreatment estimates. Furthermore, high-income countries presented lower CTQ physical neglect estimates in comparison to low- or middle-income countries, while per-capita gross domestic product of countries was negatively associated with childhood physical neglect estimates. Despite the influence of methodological covariates, these findings indicate that geographical and economic factors could influence variations of childhood maltreatment estimates around the world, particularly when assessed by a structured standardized questionnaire.

© 2015 Elsevier Ltd. All rights reserved.

Ano	Nome revista	Referência completa	Qualis CAPES	Fator de Impacto (IF)
2016	Plos One	Mansur RB, Cunha GR, Asevedo E, Zugman A, Zeni-Graiff M, Rios AC, Sethi S, Maurya PK, Levandowski ML , Gadelha A, Pan PM, Stertz L, Belangero SI, Kauer-Sant' Anna M, Teixeira AL, Mari JJ, Rohde LA, Miguel EC, McIntyre RS, Grassi-Oliveira R, Bressan RA & Brietzke E. (2016). Socioeconomic Disadvantage Moderates the Association between Peripheral Biomarkers and Childhood Psychopathology. <i>Plos One</i> , 11(8).	A1	3.057



RESEARCH ARTICLE

Socioeconomic Disadvantage Moderates the Association between Peripheral Biomarkers and Childhood Psychopathology

Rodrigo B. Mansur^{1,2,3*}, Graciele R. Cunha^{1,2}, Elson Asevedo^{1,2}, André Zugman^{1,2}, Maíara Zeni-Graiff², Adiel C. Rios², Sumit Sethi², Pawan K. Maurya², Mateus L. Levandowski^{1,4}, Ary Gadelha^{1,2}, Pedro M. Pan^{1,2}, Laura Stertz^{1,5,6}, Sintia I. Belangero^{1,2}, Márcia Kauer-Sant' Anna^{1,5}, Antônio L. Teixeira^{1,7}, Jair J. Mari^{1,2}, Luis A. Rohde^{1,5}, Euripedes C. Miguel^{1,5}, Roger S. McIntyre³, Rodrigo Grassi-Oliveira^{1,4}, Rodrigo A. Bressan^{1,2}, Elisa Brietzke^{1,2}

1 National Institute of Developmental Psychiatry for Children and Adolescents, CNPq, São Paulo, Brazil, 2 Interdisciplinary Lab for Clinical Neurosciences (LINC), Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo, Brazil, 3 Mood Disorders Psychopharmacology Unit (MDPU), University Health Network, University of Toronto, Toronto, Canada, 4 Institute of Biomedical Research, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil, 5 Department of Psychiatry, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil, 6 Center for Translational Psychiatry, Department of Psychiatry and Behavioral Sciences, The University of Texas Health Science Center at Houston, Houston, United States of America, 7 Interdisciplinary Laboratory of Medical Investigation, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil, 8 Department of Psychiatry, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brazil

* rodrigomansur71@uol.com.br

Abstract

Background

Socioeconomic disadvantage (SED) has been consistently associated with early life mental health problems. SED has been shown to impact multiple biological systems, including the regulation of neurotrophic proteins, immune-inflammatory and oxidative stress markers, which, conversely, have been reported to be relevant to physiological and pathological neurodevelopment. This study investigated the relationship between SED, different domains of psychopathology, serum levels of interleukin-6 (IL6), thiobarbituric acid-reactive substance (TBARS) and brain-derived neurotrophic factor (BDNF). We hypothesized that a composite of socioeconomic risk would be associated with psychopathology and altered levels of peripheral biomarkers. In addition, we hypothesized that SED would moderate the associations between mental health problems, IL6, TBARS and BDNF.

Methods and Findings

Using a cross-sectional design, we measured the serum levels of IL6, TBARS and BDNF in 495 children aged 6 to 12. We also investigated socio-demographic characteristics and mental health problems using the Child Behaviour Checklist (CBCL) DSM-oriented scales. SED was evaluated using a cumulative risk model. Generalized linear models were used to assess associations between SED, biomarkers levels and psychopathology. SED was significantly associated with serum levels of IL6 (RR = 1.026, 95% CI 1.004; 1.049, p = 0.020) and TBARS (RR = 1.077, 95% CI 1.028; 1.127, p = 0.002). The association between SED



CrossMark
click for updates

OPEN ACCESS

Citation: Mansur RB, Cunha GR, Asevedo E, Zugman A, Zeni-Graiff M, Rios AC, et al. (2016) Socioeconomic Disadvantage Moderates the Association between Peripheral Biomarkers and Childhood Psychopathology. *PLoS ONE* 11(8): e0160455. doi:10.1371/journal.pone.0160455

Editor: Michel Botbol, Université de Bretagne Occidentale, FRANCE

Received: April 18, 2016

Accepted: July 19, 2016

Published: August 4, 2016

Copyright: © 2016 Mansur et al. This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Data Availability Statement: All relevant data are within the paper and its Supporting Information file.

Funding: This work was supported by the following Brazilian government agencies: The National Council for Scientific and Technological Development (CNPq), the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), and the São Paulo Research Foundation (FAPESP). The funders had no role in the design and conduct of the study; collection, management, analysis, and interpretation of the data; preparation, review, or approval of the manuscript; or decision to submit the manuscript for publication.

Ano	Nome revista	Referência completa	Qualis CAPES	Fator de Impacto (IF)
2014	Journal of psychiatric research	Levandowski ML , Viola TW, Wearick-Silva LE, Wieck A, Tractenberg SG, Brietzke E, Bauer ME, Teixeira AL & Grassi-Oliveira, R. (2014). Early life stress and tumor necrosis factor superfamily in crack cocaine withdrawal. <i>Journal of psychiatric research</i> , 53, 180-186.	A2	4.465



Contents lists available at [ScienceDirect](#)

Journal of Psychiatric Research

journal homepage: www.elsevier.com/locate/psychires



Early life stress and tumor necrosis factor superfamily in crack cocaine withdrawal



Mateus Luz Levandowski^a, Thiago Wendt Viola^{a,c}, Luis Eduardo Wearick-Silva^{a,c}, Andréa Wieck^c, Saulo Gantes Tractenberg^a, Elisa Brietzke^b, Moisés E. Bauer^{a,c}, Antônio Lúcio Teixeira^d, Rodrigo Grassi-Oliveira^{a,c,*}

^aCentre of Studies and Research in Traumatic Stress, Pontifical Catholic University of Rio Grande do Sul, Av. Ipiranga, 6681 Prédio 11 Sala 936, Porto Alegre, RS 90619-900, Brazil

^bInterdisciplinary Laboratory of Clinical Neuroscience, Federal University of São Paulo, Rua Machado Bittencourt, 222, Sao Paulo, SP 04044-000, Brazil

^cLaboratory of Immunosenescence, Institute of Biomedical Research, Pontifical Catholic University of Rio Grande do Sul, Av. Ipiranga, 6690/2^o floor, Porto Alegre, RS 90610-000, Brazil

^dLaboratório Interdisciplinar de Investigação Médica da Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais, Avenida Professor Alfredo Balena, 190, Belo Horizonte, MG 30130-100, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 20 December 2013

Received in revised form

12 February 2014

Accepted 20 February 2014

Keywords:

Child abuse
Substance-related disorders
TNF
TWEAK
TRAIL
Cytokines
Inflammation

ABSTRACT

Background: Both early life stress (ELS) and substance abuse, especially cocaine, have robust effects on the inflammatory system. Considering the role of the tumor necrosis factor system in inflammatory signaling and its association with ELS, the aim of the study was to compare plasma levels of TNF- α , its soluble receptors and ligands during early abstinence of crack cocaine.

Methods: This study included 24 crack cocaine-dependent women with (CRACK-ELS) and 20 without (CRACK) a history of ELS. A healthy control group (HC), containing 25 participants, was included to provide reference values. The Childhood Trauma Questionnaire (CTQ) retrospectively assessed childhood maltreatment history of patients. Plasma levels of TNF- α , TNF-related weak inducer of apoptosis (TWEAK), TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL), soluble receptors TNFRI (sTNFRI) and TNFRII (sTNFRII) were assessed on the 18th day of treatment.

Results: The CRACK-ELS group had higher TNF- α and lower TWEAK levels compared to the CRACK and HC groups. sTNFRII was increased, but only in comparison with the crack cocaine group and the controls. TRAIL levels were slightly higher in the CRACK-ELS group, while no differences were found for sTNFRI levels. Also, TNF- α plasma level was positively predicted by abstinence severity and childhood maltreatment severity, and TWEAK was negatively predicted by childhood maltreatment severity.

Conclusions: This is the first study to evaluate the newly secreted tumor necrosis factor superfamily ligands, TWEAK and TRAIL, during crack cocaine abstinence, supporting the association between early life stress and peripheral pro-inflammatory levels.

© 2014 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Substance abuse disorders include genetic and environmental factors in their etiological models (Kendler et al., 2007). Among those, childhood maltreatment has been shown to be associated

with an increased risk of substance abuse disorders, including cocaine dependence in adult life, and particularly for heavy consumption of substances (Shin et al., 2013). In spite of this well recognized association, the pathophysiological mediators of this relation remain unknown.

Inflammation has been defined as a physiological response of the organism to external or internal deleterious stimuli, and, in normal conditions, this is a mechanism for the protection and repair of tissues (Goetz et al., 2004). Nevertheless, when inflammation is severe or is maintained for a long time, it is toxic for neural substrates (Brietzke and Kapczinski, 2008). One critical

* Corresponding author. Av.Ipiranga, 6681, Prédio11, Sala936, PortoAlegre, RS 90619-900, Brazil. Tel.: +55 5133203633.

E-mail address: rodrigo.grassi@pu.rs.br (R. Grassi-Oliveira).

Ano	Nome revista	Referência completa	Qualis CAPES	Fator de Impacto (IF)
2014	Trends in psychiatry and psychotherapy	Wearick-Silva, L. E., Tractenberg, S. G., Levandowski, M. L., Viola, T. W., Pires, J., & Grassi-Oliveira, R. (2014). Mothers who were sexually abused during childhood are more likely to have a child victim of sexual violence. <i>Trends in psychiatry and psychotherapy</i> , 36(2), 119-122.	B1	Não possui

Mothers who were sexually abused during childhood are more likely to have a child victim of sexual violence

Mães que sofreram abuso sexual na infância têm maior chance de ter um filho vítima de violência sexual

Luis Eduardo Wearick-Silva,¹ Saulo G. Tractenberg,² Mateus L. Levandowski,² Thiago W. Viola,¹ Joelza M. A. Pires,³ Rodrigo Grassi-Oliveira^{1,2}

Abstract

Introduction: Recurrent exposure to childhood sexual abuse (CSA) seems to be higher among victims of sexual abuse. In this sense, experiences related to sexual violence can perpetuate within the family context itself in various ways. Here, we investigate the association between being exposed to CSA and having a child victim of sexual abuse.

Method: We used a sample with 123 mothers, who were divided into 2 groups: one consisting of 41 mothers of sexually abused children and another consisting of 82 mothers of non-sexually abused children. History of exposure to CSA was evaluated by means of the Childhood Trauma Questionnaire – Short Form (CTQ) and we used a logistic regression model to estimate the prediction values regarding having or not a child exposed to sexual violence.

Results: Mothers of sexually abused children had significantly higher scores on CTQ, especially on the sexual abuse subscale (SA). According to our logistic regression model, higher scores on the CTQ significantly predicted the status of being a mother of children exposed to sexual violence in our sample (Wald = 7.074; $p = 0.008$; $\text{Exp}(B) = 1.681$). Years of formal education reduced the likelihood of having a child victim of sexual violence (Wald = 18.994; $p = 0.001$; $\text{Exp}(B) = 0.497$).

Conclusion: Our findings highlight the importance of a possible intergenerational effect of sexual abuse. Family intervention and prevention against childhood maltreatment should take this issue in account.

Keywords: Child sexual abuse, sexual abuse, family violence, intergenerational relations.

Resumo

Introdução: A recorrência da exposição ao abuso sexual na infância (ASI) parece ser maior entre vítimas de abuso sexual. Nesse sentido, experiências relacionadas à violência sexual podem perpetuar-se dentro do próprio contexto familiar por diversas maneiras. Aqui, investigamos a associação entre ser exposto a ASI e ter um filho vítima de abuso sexual.

Método: Usamos uma amostra com 123 mães, que foram divididas em 2 grupos: um composto por 41 mães de filhos abusados sexualmente e outro composto por 82 mães de filhos não abusados. O histórico da exposição à ASI foi avaliado por meio do Childhood Trauma Questionnaire – Short Form (CTQ) e usamos um modelo de regressão logística para estimar os valores preditivos em relação a ter ou não um filho exposto a violência sexual.

Resultados: Mães de crianças vítimas de abuso sexual obtiveram maiores escores no CTQ, especialmente na subescala de abuso sexual (SA). Segundo nosso modelo de regressão logística, escores maiores no CTQ foram capazes de prever significativamente a categoria de ser ou não mãe de uma criança vítima de violência sexual em nossa amostra (Wald = 7,074; $p = 0,008$; $\text{Exp}(B) = 1,681$). O número de anos de escolaridade reduziu a chance de ter um filho vítima de violência sexual (Wald = 18,994; $p = 0,001$; $\text{Exp}(B) = 0,497$).

Conclusão: Nossos achados ressaltam a importância de um possível efeito intergeracional do abuso sexual. Intervenções familiares e preventivas contra maus-tratos na infância deveriam levar em consideração essa problemática.

Descritores: Abuso sexual infantil, abuso sexual, violência familiar.

Ano	Nome revista	Referência completa	Qualis CAPES	Fator de Impacto (IF)
2014	Journal of psychiatry & neuroscience	Viola, T. W., Tractenberg, S. G., Levandowski, M. L., Pezzi, J. C., Bauer, M. E., Teixeira, A. L., & Grassi-Oliveira, R. (2014). Neurotrophic factors in women with crack cocaine dependence during early abstinence: the role of early life stress. <i>Journal of psychiatry & neuroscience: JPN</i> , 39(3), 206.	A2	5.570

Neurotrophic factors in women with crack cocaine dependence during early abstinence: the role of early life stress

Thiago Wendt Viola, BA; Saulo Gantes Tractenberg, BA; Mateus Luz Levandowski, BA; Júlio Carlos Pezzi, MS, MD; Moisés Evandro Bauer, PhD; Antonio Lúcio Teixeira, MD, PhD; Rodrigo Grassi-Oliveira, MS, MD, PhD

Viola, Tractenberg, Levandowski, Bauer, Grassi-Oliveira — Centre of Studies and Research in Traumatic Stress, Post-Graduate Program in Psychology, Pontifical Catholic University of the Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre, Brazil; Pezzi — Post-Graduate Program in Health Sciences, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSA), Porto Alegre, Brazil; Bauer, Grassi-Oliveira — Laboratory of Immunosenescence, Institute of Biomedical Research, Pontifical Catholic University of the Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre, Brazil; Teixeira — Neuroscience Program, Federal University of Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, Brazil

Background: Neurotrophic factors have been investigated in the pathophysiology of alcohol and drug dependence and have been related to early life stress driving developmental programming of neuroendocrine systems. **Methods:** We conducted a follow-up study that aimed to assess the plasma levels of glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF), brain-derived neurotrophic factor (BDNF), nerve growth factor (NGF), neurotrophin-3 (NT3) and neurotrophin-4/5 (NT4/5) in crack users during 3 weeks of early abstinence in comparison with healthy controls. We performed a comprehensive clinical assessment in female inpatients with crack cocaine dependence (separated into 2 groups: participants with (CSA+) and without (CSA-) a history of childhood sexual abuse) and a group of nonuser control participants. **Results:** Our sample included 104 women with crack cocaine dependence and 22 controls; of the women who used crack cocaine, 22 had a history of childhood sexual abuse and 82 did not. The GDNF plasma levels in the CSA+ group increased dramatically during 3 weeks of detoxification. In contrast, those in the CSA- group showed lower and stable levels of GDNF under the same conditions. Compared with the control group, BDNF plasma levels remained elevated and NGF levels were reduced during early abstinence. We found no differences in NT3 and NT4/5 between the patients and controls. However, within-group analyses showed that the CSA+ group exhibited higher levels of NT4/5 than the CSA- group at the end of detoxification. **Limitations:** Some of the participants were using neuroleptics, mood stabilizers or antidepressants; our sample included only women; memory bias could not be controlled; and we did not investigate the possible confounding effects of other forms of stress during childhood. **Conclusion:** This study supports the association between early life stress and peripheral neurotrophic factor levels in crack cocaine users. During early abstinence, plasmatic GDNF and NT4/5 were the only factors to show changes associated with a history of childhood sexual abuse.

Introduction

Neurotrophic factors (NFs) have been investigated in the pathophysiology of alcohol and drug dependence.¹⁻⁴ Because preclinical evidence has suggested a potential role of these

endogenous peptides in mediating the behavioural effects related to substance administration⁵ and drug-induced neuroadaptation,⁶ recent studies have explored neurotrophin expression in humans^{4,7,8} to better comprehend the neurobiological and circuit underpinnings of addiction.

Anexo II

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

UFRGS - HOSPITAL DE
CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE
DA UNIVERSIDADE FEDERAL



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Coorte de Escolares de Alto Risco para transtornos psiquiátricos na infância e adolescência: seguimentos de 3 e 6 anos. Sub- projetos Transtornos de Ansiedade e Transtorno de Déficit de Atenção/Hiperatividade

Pesquisador: Gisele Gus Manfro

Área Temática:

Versão: 4

CAAE: 13852413.0.1001.5327

Instituição Proponente: Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Patrocinador Principal: CONS NAC DE DESENVOLVIMENTO CIENTIFICO E TECNOLÓGICO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.400.592

Apresentação do Projeto:

Relevância: Os transtornos psiquiátricos são uma das causas líderes de ônus à saúde. A maioria desses transtornos psiquiátricos inicia na infância sendo que cerca de 1 em cada 10 crianças em todo o mundo possui um diagnóstico de um transtorno psiquiátrico. No entanto, muito pouco investimento em pesquisa é destinado para o estudo de transtornos mentais na infância. Muito pouco se sabe acerca dos fatores de risco e proteção e acerca das rotas biológicas relacionadas à origem e ao curso desses transtornos. A investigação dessas rotas biológicas pode trazer avanços importantes no tratamento e, principalmente, na prevenção dessas doenças, suportando o objetivo principal deste estudo. **Desenho do projeto:** foram entrevistadas 10.000 famílias oriundas de 57 escolas de Porto Alegre e São Paulo e 2500 (1.000 de forma aleatória e 1.500 de alto risco para transtornos psiquiátricos - classificadas como alto risco pela presença de sintomas psiquiátricos e na história familiar positiva para transtornos psiquiátricos) para serem intensamente avaliadas com avaliações domiciliares de saúde dos pais e da criança na escola e seguidas ao longo do tempo (3 e 6 anos após a avaliação da linha de base). Todas as crianças e seus pais doaram amostras de DNA através da saliva para estudos de genética e 750 dessas crianças realizaram um protocolo de estudo de neuroimagem estrutural e funcional. A avaliação da linha de base do projeto já ocorreu (ano de realização: 2010). Este projeto tem a intenção de apresentar os objetivos, métodos e justificativa para os seguimentos de 3 e 6 anos para os sub-projetos de Transtornos de Ansiedade

Endereço: Rua Ramiro Barcelos 2.350 sala 2227 F

Bairro: Santa Cecília

CEP: 90.035-903

UF: RS

Município: PORTO ALEGRE

Telefone: (51)3359-7640

Fax: (51)3359-7640

E-mail: cephcpa@hcpa.edu.br

UFRGS - HOSPITAL DE
CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE
DA UNIVERSIDADE FEDERAL



Continuação do Parecer: 2.400.592

e Transtorno de Déficit de Atenção e Hiperatividade.

Objetivo da Pesquisa:

O objetivo geral deste projeto é investigar a fisiopatologia dos transtornos mentais comuns (neste caso, em especial dos Transtornos de Ansiedade e do Transtorno de Déficit de Atenção/Hiperatividade) no intuito de gerar informações suficientes para poder preveni-los num futuro em curto prazo. Em outras palavras, é buscar informações ambientais, genéticas, de neuropsicologia e de neuroimagem no intuito de investigar fatores de risco e proteção que possam informar desfechos negativos relacionados à saúde mental na infância. O intuito final é refinar os critérios de risco e permitir o planejamento de intervenções para crianças de alto risco.

Objetivos Secundários:

Transtornos de Ansiedade

(1) Neuropsicologia

- Investigar a especificidade da associação entre vieses atencionais para estímulos ameaçadores e os transtornos de ansiedade (se comparados aos controles e sujeitos com outros transtornos psiquiátricos), utilizando as teorias de difusão de Ratcliff e comparando com as análises clássicas.

(2) Neuroimagem

- Investigar as diferenças de conectividade da amígdala cerebral e do córtex pré-frontal (expansões lateral e medial) entre indivíduos com transtorno de ansiedade (não comórbido com outros transtornos psiquiátricos) se comparados com controles saudáveis;
- Investigar as diferenças de conectividade na amígdala e córtex pré-frontal (expansões lateral e medial) dentre os diferentes transtornos de ansiedade: comparando fobias (fobia social e fobia específica), com transtornos do estresse (ansiedade generalizada e transtorno de estresse pós-traumático) e ansiedade de separação.

(3) Genética

- Investigar se a quantidade de variações comuns nas varreduras do genoma que estão sendo planejadas (e não especificamente a variação A ou B) estão relacionadas ao fenótipos relacionados à ansiedade, realizando comparações com esses fenótipos de forma hierarquicamente organizada de acordo com a proximidade de manifestação biológica: (a) conectividade com estruturas de interesse para ansiedade (amígdala e córtex pré-frontal); (b) vieses atencionais para estímulos ameaçadores; (c) dimensões de afeto negativo (medo, irritabilidade, distress, agressividade) e de effortful control (capacidade de focar a atenção quando

Endereço: Rua Ramiro Barcelos 2.350 sala 2227 F
Bairro: Santa Cecília CEP: 90.035-903
UF: RS Município: PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3359-7640 Fax: (51)3359-7640 E-mail: cephcpa@hcpa.edu.br

Continuação do Parecer: 2.400.592

desejado); (d) transtornos de ansiedade segundo o DSM-IV;

Transtorno de Déficit de Atenção Hiperatividade

(1) Neuropsicologia

- Investigar especificidade, relação com história familiar e dimensionalidade dos déficits em processamento básico e controle inibitório dos pacientes com TDAH (se comparados aos controles e sujeitos com outros transtornos psiquiátricos);

- Investigar especificidade, relação com história familiar e dimensionalidade dos déficits motivacionais através dos paradigmas de aversão à espera (delay aversion) dos pacientes com TDAH (se comparados aos controles e sujeitos com outros transtornos psiquiátricos);

- Investigar se a heterogeneidade clínica no TDAH pode ser explicada por diferentes perfis cognitivos utilizando a teoria dos grafos;

(2) Genéticos

- Investigar se a quantidade de variações comuns nas varreduras do genoma que estão sendo planejadas (e não especificamente a variação A ou B) estão relacionadas ao fenótipos relacionados ao TDAH, realizando comparações com esses fenótipos de forma hierarquicamente organizada de acordo com a proximidade de manifestação biológica: (b) déficits em processamento básico, controle inibitório, aversão à espera e processamento temporal (c) dimensões do TDAH (hiperatividade e desatenção) e de effortful control (capacidade de focar a atenção quando desejado); (d) TDAH segundo o DSM-IV;

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

As tarefas a serem realizadas para a conclusão deste projeto possuem alguns riscos e/ou inconveniências para o participante: poderão ficar cansados com o preenchimento dos questionários. Também poderão se sentir ansiosos ou constrangidos por responder perguntas sobre seus próprios sentimentos e comportamentos no dia-a-dia, pois os conteúdos envolvem emoções, e comportamentos que podem ser desagradáveis.

Tentaremos minimizar estes possíveis efeitos utilizando avaliadores treinados e questionários curtos.

Benefícios:

Endereço: Rua Ramiro Barcelos 2.350 sala 2227 F
Bairro: Santa Cecília CEP: 90.035-903
UF: RS Município: PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3359-7640 Fax: (51)3359-7640 E-mail: cephcpa@hcpa.edu.br

UFRGS - HOSPITAL DE
CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE
DA UNIVERSIDADE FEDERAL



Continuação do Parecer: 2.400.592

Os transtornos psiquiátricos são uma das causas líderes do ônus à saúde. A maioria desses transtornos psiquiátricos inicia na infância e cerca de 1 em cada 10 crianças em todo o mundo possui um diagnóstico de um transtorno psiquiátrico. Apesar disso, muito pouco investimento em pesquisa é destinado para o estudo de transtornos mentais na infância e ainda muito pouco se sabe acerca dos fatores de risco e proteção e das rotas biológicas relacionadas à origem e ao curso desses transtornos. A investigação dessas rotas biológicas pode trazer avanços importantes no tratamento e, principalmente, na prevenção dessas doenças, suportando o objetivo principal deste estudo.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Emenda 01 submetida na PB em 14/09/2017 com resposta de pendências submetida em 07/11/2017.

Alterações propostas pela emenda:

- 1- Transportar as amostras de DNA, já extraídas, para o laboratório de neurociência cognitiva do desenvolvimento (DNCL) da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS) no laboratório de neurociência cognitiva do desenvolvimento (DNCL).
- 2- Realizar no DNCL da PUCRS reações em cadeia da polimerase quantitativa (PCRq) para quantificar o número de cópias dos seguintes genes: (i) Beta-hemoglobina, (ii), DNA mitocondrial(iii) Telômero e (iv) ND4.
- 3- Posteriormente, os genes analisados serão utilizados para cruzar com variáveis de exposição a estresse ambiental já existentes no banco de dados.
- 4-Todo o material genético não utilizado será devolvido a instituição de origem. Nenhuma amostra de DNA será mantida na PUCRS após finalização do experimento.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foram incluídos os seguintes documentos:

- Carta de justificativa de emenda
- Anuência da PUCRS.
- Formulário de delegação de funções.
- Declaracao_Grassi (sobre responsabilidades pelos custos adicionais das análises propostas)
- Projeto_2017

Recomendações:

* Sugerimos que quando da atualização do Projeto atualizar também a data do mesmo para que seja possível identificar o versionamento.

Endereço: Rua Ramiro Barcelos 2.350 sala 2227 F
Bairro: Santa Cecília CEP: 90.035-903
UF: RS Município: PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3359-7640 Fax: (51)3359-7640 E-mail: cephcpa@hcpa.edu.br

**UFRGS - HOSPITAL DE
CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE
DA UNIVERSIDADE FEDERAL**



Continuação do Parecer: 2.400.592

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

As pendências emitidas para o projeto no parecer 2.300.575 foram adequadamente respondidas pelos pesquisadores de acordo com a carta de respostas adicionada em 07/11/2017. Não apresenta novas pendências.

Considerações Finais a critério do CEP:

Emenda 01 submetida na PB em 07/11/2017 aprovada, inclui Projeto de 07/11/2017.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_240943_E1.pdf	07/11/2017 13:32:57		Aceito
Outros	Resposta_CEP.docx	07/11/2017 13:31:15	GIOVANNI ABRAHAO SALUM JUNIOR	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Declaracao_Grassi.pdf	07/11/2017 13:30:19	GIOVANNI ABRAHAO SALUM JUNIOR	Aceito
Brochura Pesquisa	Projeto_2017.docx	07/11/2017 13:28:40	GIOVANNI ABRAHAO SALUM JUNIOR	Aceito
Outros	Justificativa_emenda.docx	14/09/2017 10:47:11	GIOVANNI ABRAHAO SALUM JUNIOR	Aceito
Outros	Anuencia_PUC.pdf	14/09/2017 10:46:53	GIOVANNI ABRAHAO SALUM JUNIOR	Aceito
Outros	Delegacao_funcoes.pdf	14/09/2017 10:46:34	GIOVANNI ABRAHAO SALUM JUNIOR	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE RMI com solicitações CEP.doc	15/05/2013 16:07:35		Aceito
Folha de Rosto	folha_rosto.pdf	28/03/2013 10:16:24		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.doc.pdf	28/03/2013 10:03:31		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	(Microsoft Word - PREV_Projeto_Seguimento3a_gs2 .pdf	28/03/2013 10:03:04		Aceito

Endereço: Rua Ramiro Barcelos 2.350 sala 2227 F
 Bairro: Santa Cecília CEP: 90.035-903
 UF: RS Município: PORTO ALEGRE
 Telefone: (51)3359-7640 Fax: (51)3359-7640 E-mail: cephcpa@hcpa.edu.br

UFRGS - HOSPITAL DE
CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE
DA UNIVERSIDADE FEDERAL



Continuação do Parecer: 2.400.592

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

PORTO ALEGRE, 27 de Novembro de 2017

Assinado por:
Marcia Mocellin Raymundo
(Coordenador)

Anexo III

TERMO DE CONSENTIMENTO LIBRE E ESCLARECIDO

Departamento de Psiquiatria e Medicina Legal da Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Hospital de Clínicas de Porto Alegre

TERMO DE CONSENTIMENTO LIBRE E ESCLARECIDO

PROJETO: *Coorte de Alto Risco para o Desenvolvimento de Transtornos Psiquiátricos na Infância e*

Adolescência: seguimento de 3 e 6 anos

Pesquisadores Responsáveis: Dr. Gisele Gus Manfro e. Dr. Luis Augusto Paim Rohde

Você e seu filho estão sendo convidados para participar da fase de re-avaliação do projeto “Coorte de Alto Riso para Desenvolvimento de Transtornos Psiquiátricos na Infância e Adolescência”. Você já participou deste projeto há 3 anos e é por isso que estamos procurando novamente. Este projeto tenta entender por que algumas crianças tem problemas em lidar com as suas emoções (como ansiedade e depressão) ou tem problemas de comportamento (como problemas na atenção) e outras crianças lidam bem com emoções e não tem esses problemas de comportamento.

Para tentar entender como isso acontece ao longo do tempo estamos re-avaliando as crianças com e sem esses problemas de que falamos. Se o Sr.(a) aceitar participar da pesquisa e der autorização para que seu filho participe um pesquisador treinado irá realizar novamente uma entrevista de aproximadamente 2 horas com você acerca de como você lida com as suas emoções e seus comportamentos e também sobre as emoções e comportamentos do seu filho. Além disso, um psicólogo treinado realizará uma série de testes para avaliar o funcionamento psicológico do seu filho.

Essa avaliação psicológica consiste em perguntas sobre alterações do comportamento e das emoções e de testes de computador sobre a capacidade dele em realizar tarefas simples como apertar um botão do computador o mais rápido que ele puder e dura também cerca de 2 horas. As avaliações são muito semelhantes àquelas já realizadas por você na primeira avaliação do projeto.

Alguns dos participantes serão selecionados para realizar um exame de Ressonância Magnética que é método de diagnóstico por imagem que não utiliza radiação e permite obter imagens de alta definição dos órgãos de seu corpo. No caso da nossa pesquisa, faremos imagens apenas do cérebro. A criança ficará deitada na mesa da RM, com instrução apenas de relaxar e permanecer o mais imóvel possível enquanto as imagens são feitas. Um membro da equipe acompanhará todo o exame e haverá uma campainha para você fazer contato caso haja algum desconforto. O exame é indolor; você perceberá apenas um som alto emitido pela máquina. A duração do exame é de cerca de 40 minutos.

RISCOS E INCONVENIÊNCIAS: Lembramos que as tarefas a serem realizadas para a conclusão deste projeto possuem alguns riscos e/ou inconveniências para o participante: você e seu filho (a) poderão ficar cansados com o preenchimento dos questionários. Também poderão se sentir ansiosos ou constrangidos por responder perguntas sobre seus próprios sentimentos e comportamentos no dia-a-dia, pois os conteúdos envolvem emoções, e comportamentos que podem ser desagradáveis.

Tentaremos minimizar estes possíveis efeitos utilizando avaliadores treinados e questionários curtos. **BENEFÍCIOS:** Não há benefícios diretos para os indivíduos que participarem deste estudo, além de possibilitar a identificação precoce de um problema psiquiátrico na infância. Neste caso, vocês serão adequadamente informados e serão encaminhados a rede de saúde para tratamento. Além disso, sua participação irá ajudar a avançar o entendimento e o tratamento de crianças com problemas emocionais e de comportamento.

SIGILO E PRIVACIDADE: As informações produzidas serão mantidas em local seguro e de forma codificada. A identificação só poderá ser realizada pelo pessoal envolvido diretamente com o projeto. Caso o material venha a ser utilizado para publicação científica ou atividade didática, seu nome ou do seu filho não será identificado.

DESPESAS E COMPENSAÇÕES: Não há despesas pessoais para o participante. Se o participante estiver em alguma atividade de trabalho, será ressarcido pelos pesquisadores o tempo que o participante dispendeu durante as entrevistas.

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que a minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do encaminhamento a tratamento quando necessário. Concordo voluntariamente na participação de meu filho e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

Em caso de dúvidas você poderá ligar para o Comitê em ética e pesquisa do Hospital de Clínicas telefone: (51) 33598304 ou direto com os pesquisadores Dr Giovanni A. Salum Jr, Dra Gisele Manfro ou Dr Luis A. Rohde através do telefone (51) 33598094 ou (51) 33598983. Você poderá contatar também os pesquisadores pelo telefone (11) 2661-7594.

Nome da criança:

data:

Assinatura:

Nome do responsável:

data:

Assinatura:

Nome do pesquisadorl:

data:

Assinatura: