



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA  
INSTITUTO DE BIOLOGIA

CURSO DE GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**IDENTIFICAÇÃO DE FATORES AMBIENTAIS E IMUNOLÓGICOS  
RELACIONADOS A ALTERAÇÕES DE COMPORTAMENTO NA INFÂNCIA**

por

DANIEL EVANGELISTA SANTOS

**Trabalho de Conclusão do curso**  
apresentado ao Instituto de Biologia da  
Universidade Federal da Bahia como exigência  
para a obtenção do grau de Bacharel em Ciências  
Biológicas.

Dr. Pablo Rafael Silveira Oliveira

Salvador, BA

2022

Data da Defesa: 14/12/2022

**Banca Examinadora:**

---

**Dr. Pablo Rafael Silveira Oliveira**  
**Universidade Federal da Bahia**

---

**Dr. Gustavo Nunes de Oliveira Costa**  
**Universidade Salvador**

---

**Dr. Carlos Eduardo Sampaio Guedes**  
**Universidade Federal da Bahia**

## RESUMO

Problemas de saúde mental afetam aproximadamente 20% das crianças de todo o mundo. Dentre as alterações comportamentais mais frequentes entre crianças, estão os comportamentos internalizantes (CI), que incluem humor deprimido, retraimento e ansiedade; e os comportamentos externalizantes (CE), que incluem hiperatividade, transtorno desafiador opositor, manifestações antissociais e agressividade. Grande parte dos transtornos mentais diagnosticados em adultos têm suas origens na infância e adolescência. Estudos recentes revelaram correlações positivas entre níveis plasmáticos de citocinas inflamatórias e sintomas depressivos e ansiosos em humanos. Neste contexto, mediadores inflamatórios podem afetar o funcionamento do sistema nervoso, modulando vias de neurotransmissão e atividades neuroendócrinas. Este estudo identificou crianças com CI e CE em uma amostra populacional de Salvador, Bahia. Além de investigar o papel de fatores sociodemográficos e ambientais na ocorrência dos sintomas destas alterações na população, correlacionou os níveis de citocinas (IL-10, IL-5, IL-13 e IFN- $\gamma$ ) no sangue periférico dos sujeitos de estudo com a ocorrência dos desfechos investigados. Foi encontrada uma associação significativa ( $p < 0.05$ ) entre a ocorrência destas alterações e a presença de sofrimento mental do cuidador, renda mensal familiar e o tipo de disciplina aplicada. Também foi observado aumento significativo ( $p < 0.05$ ) na concentração de IL-6, IL-10, IL-13 e IFN- $\gamma$  no plasma de indivíduos que apresentam sintomas de CI e/ou CE. Estes resultados sugerem que a concentração de citocinas é um bom marcador da presença destas alterações, principalmente a IL-10 e IL-13. Este estudo se destaca na literatura por trabalhar com uma população miscigenada brasileira. Portanto, considerando que muitos aspectos acerca das alterações comportamentais em crianças ainda não são conhecidos, os resultados deste estudo podem consolidar a visão sobre a influência de fatores imunológicos e ambientais no desenvolvimento de alterações comportamentais em crianças.

## ABSTRACT

Mental health problems affect approximately 20% of children around the world. Among the most frequent behavior changes in children are the internalizing mood disorders (IMD), which include depressive mood, withdrawal and anxiety; and the externalizing mood disorders (EMD) which include hyperactivity, oppositional defiant disorder, antisocial behavior and aggressiveness. Most mood disorders diagnosed in adults have the onset in childhood and adolescence. Recent studies revealed positive correlations between inflammatory cytokines levels in the blood and depressive symptoms and anxiety in humans. In this context, inflammatory mediators can affect the nervous system functioning, modulating neurotransmissions pathway and neuroendocrine activity. This study identified children with IB and EB in a population sample from Salvador, Bahia. It also investigated the role of sociodemographic and environmental factors in the occurrence of mood disorders symptoms, correlating the cytokines levels (IL-10, IL-5, IL-13 e IFN- $\gamma$ ) in the peripheral blood of the study subjects with the occurrence of the investigated outcomes. A significant association was found ( $p < 0.05$ ) between the occurrence of mood disorders and the presence of mental suffering in the main caregiver, monthly family income and the type of discipline applied. Beyond that, it was observed a significant association ( $p < 0.05$ ) between the cytokine's levels (IL-10, IL-5, IL-13 e IFN- $\gamma$ ) in the plasmatic blood and the presence of mood disorders symptoms. These results suggest that the concentration of cytokines can be a good biomarker for the presence of mood disorders symptoms, especially IL-10 and IL-13. This study stands out in the literature for investigating these disorders in a mixed-race population from Brazil. Therefore, considering that most aspects relating to the onset of mood disorders in children are still unknown, the results of this study strengthen the understanding regarding the influence of immunological and environmental factors in the development of mood disorders in children.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de agradecer ao Brasil, meu país, berço esplêndido do meu nascimento e crescimento, que me ofereceu oportunidades de desenvolvimento profissional. Agradeço à Universidade Federal da Bahia por proporcionar os recursos necessários à minha formação. Assim como, agradeço ao Instituto de Biologia (UFBA) e a todos integrantes do corpo docente e terceirizados que mantiveram a instituição funcionando na melhor capacidade possível, especialmente diante dos desafios enfrentados ao longo dos anos. Agradeço também ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) pelas bolsas de pesquisa concedidas ao longo dos meus anos de formação. Gostaria de agradecer aos seguintes laboratórios, Laboratório de Ecologia Bentônica (LEB), Laboratório de Genética Populacional e Evolução Molecular (GENEV), Laboratório de Fisiologia Animal (LAFISIO) e Laboratório de Genômica de Doenças Complexas (LGDC) e seus integrantes por todos os ensinamentos que culminaram nos conhecimentos que fundamentaram minha formação.

Além destes, gostaria de agradecer aos professores e orientadores que mais marcaram minha carreira e meu desenvolvimento. Prof. Geraldo Aquino, Prof. Francisco Carlos Rocha de Barros Junior, Prof. André Luís da Cruz, Prof. Renata Lucia Leite Ferreira de Lima, Prof. Sheila Vitória Resende e Prof. Pedro Milet Meirelles. Também, gostaria de agradecer a supervisores de laboratório e estágio que me auxiliaram, Yuri Costa, Alice Reis, Lorena Dias, Paulo Lara, Gabriela Britto e Edson Amaral.

Especialmente, quero agradecer e dedicar este trabalho à Professora Doutora Flora Maria de Campos Fernandes. Pela orientação, pela amizade e pelo apoio como seu pupilo nos últimos anos de sua vida. Flora sempre se destacou como uma fantástica professora e orientadora. Sou eternamente grato por cada momento de apoio e amizade.

Gostaria também de agradecer especialmente ao Professor Pablo Rafael Silveira Oliveira, que já havia se destacado como um orientador importante para minha carreira. Apesar do desafio, assumiu minha orientação deste TCC e sou eternamente grato por isto. Agradeço todo o apoio e ensinamentos.

Gostaria também de agradecer as pessoas especiais em minha vida. Meu pai, Artur Virgínio dos Santos, que além de todo apoio, também me ensinou a ter um caráter inabalável. A minha mãe, Josselita Evangelista da Silva, pelo apoio, carinho e ensinamentos. A minha irmã, Linielle Evangelista dos Santos Gerardini, por ter sido uma segunda mãe para mim, pelas trocas de fralda, pelo apoio e por ser a pessoa que coloca meus pés no chão quando minha cabeça está nas nuvens. A Maria Laura Gomes Pagoto e Carlos Eduardo Neves Arruda, por terem sido como um porto seguro ao longo de todos esses anos. E aos meus amigos que compartilharam essa jornada comigo, Diogo Burgos de Affonseca, João Jany, Inara Conceição Melo Costa, Maria Clara Fontes Vieira, Mateus Santana Ribeiro, Aliny Mota, Áureo Barbosa, Ana Paula Morena Oliveira Brandão, João Lucas da Silva, Victor Marinho Lima, Luana Rios, Lucas Barbosa, Clara Sofia e Pedro Henrique Andrade.

"Se eu vi mais longe, foi por estar sobre ombros de gigantes."

Isaac Newton, 1675

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO GERAL</b>	<b>1</b>
1.1 Saúde Mental no Mundo	1
1.2 Transtornos Mentais	2
1.3 Alterações Comportamentais	4
1.3.1 Alterações de Comportamento Internalizantes (CI)	6
1.3.2 Alterações Comportamentais Externalizantes (CE)	7
1.4 A História das Pesquisas com Alterações Comportamentais	8
1.5 Epidemiologia de alterações Comportamentais	10
1.5.2 Epidemiologia Analítica	11
1.6 Etiologia de Alterações Comportamentais	12
1.6.1 Fatores Ambientais	13
1.6.2 Processos inflamatórios	15
1.6.2.1 Interferon- $\gamma$ (IFN- $\gamma$ )	17
1.6.2.2 Interleucina-5 (IL-5)	18
1.6.2.3 Interleucina-10 (IL-10)	19
1.6.2.4 Interleucina-13 (IL-13)	20
1.7 Tratamento e Prevenção	21
1.8 Biomarcadores na Psiquiatria	22
<b>2. OBJETIVOS</b>	<b>23</b>
2.1 Objetivo Geral	23
2.2 Objetivos Específicos	23
<b>3. CAPÍTULOS EM FORMATO DE ARTIGO</b>	<b>24</b>
3.1 CAPÍTULO ÚNICO	24
DESTAQUES	27
1. INTRODUÇÃO	28
2. MÉTODOS	29
2.1 Amostra populacional e considerações éticas	29
2.2 Instrumentos de avaliação psicológica	30
2.3 Identificação de Casos com Sintomas	31
2.4 Citocinas	31
2.6 Análises de associações	32
3. RESULTADOS	32
3.1 Características da Coorte	33



3.2 Associação entre Fatores ambientais e desfechos	33
3.3 Associação entre Desfechos e Citocinas	35
4. DISCUSSÃO	36
5. AGRADECIMENTOS	39
6. CONFLITO DE INTERESSES	39
7. REFERÊNCIAS	39
<b>4. DISCUSSÃO GERAL</b>	<b>48</b>
4.1 Dados retirados das análises	48
4.2 Citocinas com potencial para Biomarcador	49
<b>5. CONCLUSÕES GERAIS</b>	<b>51</b>
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>52</b>
<b>APÊNDICES OU ANEXOS</b>	<b>60</b>
<b>VERSÃO EM INGLÊS DO ARTIGO</b>	<b>60</b>
HIGHLIGHTS	61
1. INTRODUCTION	61
2. METHODS	63
2.1 Population sample and ethical considerations	63
2.2 Psychological Assessment Instruments	63
2.3 Identifying Symptoms Cases	64
2.4 Cytokines	64
2.6 Association Analysis	66
3. RESULTS	66
3.1 Population Characteristics	66
3.2 Environmental Factors and Outcome Association	67
3.3 Association between Outcomes and Cytokines	68
4. DISCUSSION	69
5. ACKNOWLEDGEMENT	72
6. CONFLICT OF INTERESTS	72
The authors declare that they have no conflict of interest of any kind.	72
7. REFERENCES	72

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

### 1.1 Saúde Mental no Mundo

Problemas de saúde mental acometem entre 10% a 20% da população mundial de crianças e adolescentes (KIELING *et al.*, 2011). Depressão é o transtorno mais comum no mundo e estima-se que 5% de toda população adulta está acometida, segundo a Organização Mundial da Saúde (2020). Diante disso, para cada suicídio cometido estima-se que existam 20 tentativas e essas, por sua vez, estão associadas a alterações comportamentais, principalmente depressão profunda (JEON, 2011; WORKMAN; PRIOR, 1997). Além disso, o suicídio é classificado como a quarta maior causa de morte entre indivíduos de 15 a 29 anos no mundo, segundo a mesma organização. Logo, a saúde mental dos jovens é um dos principais fatores para garantir saúde e qualidade de vida à população (OMS, 2022). Visando garantir estes direitos inalienáveis aos seres humanos, é necessário compreender melhor os fatores que levam ao desenvolvimento de alterações comportamentais, contribuindo com a geração de medidas de prevenção e tratamento mais efetivas.

Como a maior parte dos transtornos mentais têm origem na infância e adolescência, fica claro a importância de dar atenção a esse período da vida (LA MAISON *et al.* 2018). Diversos avanços foram feitos na última década, quanto a pesquisas na área da saúde mental de crianças (HOAGWOOD *et al.* 2001).

## 1.2 Transtornos Mentais

Transtornos mentais são definidos como a desregulação do humor, atividade psicomotora e alterações no ritmo biológico e cognição (SADOCK; SADOCK; RUIZ, 2017). Outra descrição útil para Transtornos Mentais é que estes são definidos como mudanças clinicamente significativas na cognição, regulação das emoções ou comportamento de uma pessoa que reflete uma disfunção no desenvolvimento psicológico, mental e biológico (AMERICAN, 2014). O termo é utilizado para englobar múltiplos transtornos como transtorno bipolar, depressão aguda e transtorno depressivo (AMERICAN, 2014). Transtornos mentais estão associados a sofrimento mental, afeta interações sociais, profissionais e outras atividades importantes da vida em sociedade. Mudanças de comportamento devido ao luto, práticas religiosas, comportamentos sexuais e com motivações políticas não são considerados transtornos mentais (AMERICAN, 2014). Por essa razão, as definições aqui utilizadas fazem parte da terminologia sugerida pela *Organização Mundial da Saúde* (OMS, 2022) desde a publicação da 10ª edição da *Classificação Estatística Internacional de Doenças e Problemas Relacionados com a Saúde* (CID-10) (WELLS, R. H. C. *et al.* 2011), bem como, a quarta edição do *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders* (DSM-IV) publicado pela *Associação Americana de Psiquiatria* em inglês; *American Psychiatric Association's* (APA's). É importante compreender que o uso do termo "Transtorno" ao invés de "Doença", visa evitar estigma e problemas conceituais relacionados ao seu uso. Portanto, apesar do termo "Transtornos" não ser exato, pode ser útil para indicar a presença de sintomas e comportamentos clinicamente reconhecíveis (WELLS, R. H. C *et al.*, 2011).

Transtornos mentais afetaram 1 entre 8 pessoas no mundo em 2019 (OMS, 2022). Durante a pandemia de COVID-19, o número de pessoas vivendo com transtornos de ansiedade e depressão aumentou significativamente. Estimativas iniciais demonstram um aumento de 26% em transtornos de ansiedade e de 28% para depressão aguda (OMS, 2022). No entanto, pessoas com transtornos mentais nem sempre têm acesso a cuidados efetivos. Além disto, a experiência com estigma e discriminação podem desencorajar a busca por ajuda (OMS, 2022). De acordo com a OMS, transtornos de saúde mental são um dos principais causadores de invalidez no mundo.

As primeiras duas décadas da vida são os anos mais decisivos, pois a maior parte das pessoas desenvolvem transtornos mentais neste período (LA MAISON *et al.*, 2018). Por essa razão, é crucial investigar as taxas, fatores e progressão de transtornos mentais em jovens (MERIKANGAS K. R *et al.* 2009). Neste contexto, a maioria dos estudos sugerem que aproximadamente 1 em cada 4 jovens sofreram com algum transtorno mental nos últimos anos, sejam casos episódicos ou crônicos, e aproximadamente um terço ao longo da vida. Apesar dos resultados variarem dependendo da metodologia escolhida nos diferentes estudos. Apenas menos da metade dos jovens atualmente com transtornos mentais recebem tratamento para saúde mental (MERIKANGAS K. R *et al.* 2009). Neste cenário, pesquisas têm focado na investigação de fatores epidemiológicos relacionados a alterações comportamentais em jovens. Diversas ferramentas capazes de identificar sintomas foram desenvolvidas com o objetivo de acompanhar o progresso destes transtornos. Entre estas, a mais utilizada no ambiente clínico é o DSM-V ou ferramentas capazes de serem convertidas à escala do DSM-V, como *The Child Behavior Checklist* (CBCL) (THOMAS M. A., 1992). Permitindo assim que grupos de pesquisa utilizem outras ferramentas que podem oferecer dados úteis à pesquisa, enquanto mantêm o diálogo com a prática clínica. O CBCL faz parte do Sistema de Avaliação Baseado Empiricamente Achenbach em inglês; *Achenbach System of Empirically Based Assessment* (ASEBA). O (ASEBA) é um sistema baseado em dados empíricos, montado ao longo de anos de estudo, que objetiva detectar problemas comportamentais e emocionais em crianças e adolescentes. O ASEBA é composto por três componentes, o questionário do CBCL que é preenchido pelos pais de crianças entre 8 e 11 anos, o *Teacher's Report Form* (TRF) e o *Youth Self-Report* (YSR). O questionário CBCL consiste em um conjunto com 118 perguntas sobre alterações de comportamento, que deve ser respondido dentro das categorias: 0 como nunca, 1 às vezes presente, e 2 sempre presente. O valor total atribuído a cada item gera um escore bruto, que é então convertido em um escore T, que permite fazer inferências sobre a gravidade do problema apresentado pelo indivíduo avaliado (PETTY *et al.* 2008). Logo, estudos buscando identificar sintomas de alterações comportamentais costumam utilizar o ASEBA (MERIKANGAS K. R *et al.* 2009). O CBCL já demonstrou ser uma boa métrica para prever psicopatologias subsequentes (PETTY *et al.* 2008).

### 1.3 Alterações Comportamentais

A classificação dos transtornos mentais em categorias bem definidas provou ser uma tarefa de difícil execução, com diferentes argumentos a favor de revisões nas categorias, inclusão de novas categorias e união de múltiplas categorias (SADOCK; SADOCK; RUIZ, 2017). Diante dos diversos desafios para o desenvolvimento de uma classificação coesa e robusta, reforça-se a importância do investimento em validar agrupamentos de alterações comportamentais, em detrimento de validar categorias individuais de diagnóstico (ACHENBACH *et al.*, 2016; AMERICAN, 2014). Esta observação é reforçada pelo fato de que os sintomas de Transtorno de Ansiedade Generalizada (TAG) e depressão podem ser semelhantes entre si, assim como, os sintomas de Fobia social e Estresse Pós-traumático (PTSD) (LIPPARD; NEMEROFF, 2020).

Surge uma classificação hierárquica dos problemas de saúde mental relacionados a transtornos mentais. Os transtornos mentais no topo são caracterizados por uma ou mais alterações comportamentais que, por sua vez, são caracterizadas por um conjunto de comportamentos observáveis com co-ocorrência (KOTOV *et al.*, 2017; GAULD; GIROUX; MICOULAUD-FRANCHI, 2022; WATSON, 2005). Para psicopatologistas, de acordo com o modelo hierárquico-dimensional, (ACHENBACH; DUMENCI, 2001), na base da hierarquia, estão vários problemas específicos na escala de Likert. A escala de Likert é uma escala de resposta psicométrica, usada habitualmente em questionários e pesquisas de opinião. Em seguida, está a escala de síndromes, que por sua vez, é composta por um conjunto de problemas do nível hierárquico anterior. Por último, estão os agrupamentos de alterações comportamentais internalizantes e externalizantes, que são definidos pelo somatório dos escores das síndromes de cada grupo (ACHENBACH *et al.*, 2016). Dentro deste modelo, é importante destacar que um indivíduo pode apresentar somatório significativo em síndromes dos dois agrupamentos, resultando em um indivíduo que apresenta tanto alterações comportamentais internalizantes quanto externalizantes (Pesenti-Gritti, P., 2008).

Em 1966, os termos alterações comportamentais internalizantes e externalizantes foram usados para descrever grupos de problemas comportamentais

observados empiricamente em crianças. Desde então, mais de 75.000 artigos publicados em revistas utilizaram o termo. Isso se dá pelo fato do modelo hierárquico-dimensional não caracterizar cada criança dentro de classes arbitrárias, mas sim permitir a descrição de padrões particulares de problemas em uma escala dimensional (ACHENBACH *et al.*, 2016). Logo, esse modelo permite maiores nuances nos diagnósticos, permitindo observações na prática clínica de escores que ainda não passaram do limiar de detecção, mas estão próximos e podem ser pontos importantes a serem considerados ao longo do tratamento destes pacientes.

O modelo hierárquico-dimensional é utilizado no CBCL, uma ferramenta que já foi testado em múltiplas culturas, demonstrando eficácia. No Brasil, CBCL demonstrou boa sensibilidade (87%), reconhecendo 100% dos casos graves e 95% dos casos moderados, ao utilizar o ponto de corte de 64 (BORDIN, I. A. *et al.*, 1995). Assim como, a versão brasileira do YSR tem demonstrado ser válida tanto para escalas de alterações internalizantes quanto externalizantes (BORDIN, I. A. *et al.*, 2013). Este modelo também vem sendo alvo de diversas revisões e atualizações ao longo dos anos (ACHENBACH *et al.*, 2016). Portanto, possuem fundamentação extensa para sua utilização em pesquisa de associações entre fatores ambientais e resultados obtidos através deste modelo.

É importante destacar que alterações comportamentais são diferentes de oscilações de humor. Isto é, quando o humor de uma pessoa muda diante das situações do dia a dia, estas alterações costumam ser passageiras e não interferem na vivência do indivíduo. Além disto, algumas pessoas são mais suscetíveis a demonstrar respostas do que outras (SADOCK; SADOCK; RUIZ, 2017). Entretanto, estas alterações não são consideradas alterações comportamentais.

### 1.3.1 Alterações de Comportamento Internalizantes (CI)

Este grupo de alterações comportamentais são geralmente caracterizadas por síndromes de humor deprimido, retraimento e ansiedade proeminente (ACHENBACH, T. M., 1992). Ansiedade, pânico e comportamento deprimido compartilham sintomas em comum (AMERICA, 2014). Por essa razão, a estrutura nosológica de alterações de humor deprimido e ansiedade ainda são tópicos de discussão na literatura, considerando que ambos os grupos compartilham fatores de comportamento internalizantes muito similares (ACHENBACH et al., 2016; CRASKE et al., 2009, WATSON, 2005).

Por exemplo, (WATSON, 2005) sugere agrupar alterações de humor e ansiedade sob o termo guarda-chuva de "Alterações comportamentais Internalizantes", composto por três subclasses: distúrbio bipolar, transtorno de angústia e transtorno de medo, já a escala hierárquica-dimensional de psicopatologias, utiliza escores em diversas síndromes para avaliar a presença dos comportamentos internalizantes (ACHENBACH et al., 2016). Observa-se portanto, que há uma variação significativa na forma que os escores para alterações internalizantes são computados, na literatura, o que por sua vez, pode ser um desafio na comparação entre dados de diferentes estudos.

Outro ponto relevante é que alguns estudos avaliam apenas as alterações comportamentais internalizantes, excluindo as externalizantes das análises, algo que pode resultar em dados com pouca confiabilidade (ACHENBACH et al., 2016). Por esta razão inclusive, este estudo trabalhou com ambas as alterações (CI e CE) e seguiu as diretrizes de padronização das observações sugeridas (ACHENBACH; DUMENCI, 2001). Ou seja, não adicionou questões nos questionários do CBCL ou qualquer etapa da identificação dos indivíduos como casos, para sinais indicativos de sintomas de CI ou CE, ou controles (ACHENBACH et al., 2016).

### **1.3.2 Alterações Comportamentais Externalizantes (CE)**

A identificação de alterações comportamentais em crianças e adolescentes aumentou nas últimas décadas (ROCHA et al., 2013). Dentre os sintomas de alterações internalizantes em crianças e adolescentes, estão alguns mais conhecidos, como retração, muito associado à depressão, mas também sintomas menos conhecidos, como o comportamento desafiador, que são sinais de alterações externalizantes (ACHENBACH; DUMENCI, 2001). As alterações externalizantes são caracterizadas por comportamentos de hiperatividade e/ou déficit de atenção (TDAH), Transtorno desafiador opositor, manifestações antissociais e agressividade (ACHENBACH, T. M, 1992). Crianças com sintomas pertencentes a esse grupo de alterações costumam apresentar comportamentos antissociais, agressividade, envolvimento em situações de briga e hiperatividade na infância. Por serem comportamentos menos associados a problemas de saúde mental, considerando o senso comum, sendo, muitas vezes, considerados comportamentos normais na infância, como rebeldia, por exemplo, é possível que crianças com estes comportamentos demorem mais a serem diagnosticadas.

Os altos níveis de prevalência dessas desordens são preocupantes, uma vez que casos não tratados podem levar a diversos resultados relevantes na sociedade, como, por exemplo, atividade criminal, abandono dos estudos, desemprego, uso de substâncias ilícitas e gravidez precoce (WRIGHT, 2015). Esse fato, aliado ao consenso na literatura de que intervenções precoces oferecem a melhor oportunidade de sucesso (BRESTAN; EYBERG, 1998; CAIRNS; CAIRNS, 2000; WWEISZ et al., 1987), demonstram a importância de se dar uma maior atenção a estes tipos de comportamentos. Dessa forma, reconhecer sinais de alterações comportamentais externalizantes é um fator importante para combater futuros problemas de saúde e consequências sociais.



#### 1.4 A História das Pesquisas com Alterações Comportamentais

O interesse pela saúde mental começou tão cedo quanto a própria medicina. Hipócrates, dedicou parte considerável de seus textos médicos para a descrição de estados maníacos e melancólicos. A medicina greco-romana reconhecia uma variedade de alterações comportamentais, desde casos mais leves (Humor deprimido) aos casos mais severos (Depressão aguda). Além disso, também reconheciam padrões relacionados à recorrência de melancolia e algumas doenças físicas durante certas estações, inclusive identificando a tendência ao alcoolismo em indivíduos com tendência à mania (SADOCK; SADOCK; RUIZ, 2017). Desde então, mais conhecimentos quanto a todos estes fatores observados, foram descobertos, como por exemplo, a relação entre o aumento do humor deprimido durante a estação do inverno, conhecido como *Seasonal Affective Disorder* (SAD).

Em 1960 pesquisadores associados ao Programa de Saúde Mental da OMS começaram a desenvolver melhores diagnósticos e classificações para os transtornos mentais. Isso resultou em uma revisão da classificação de transtornos mentais e a criação de um glossário classificando transtornos mentais em categorias. Todas essas inovações foram publicadas na 8ª revisão da Classificação Estatística Internacional de Doenças e Problemas Relacionados com a Saúde (WELLS, R. H. C.. et al., 2011). Ao longo dos anos seguintes, o número de pesquisas no campo aumentou, assim como, as colaborações internacionais entre laboratórios. Através das quais, diversas inconsistências e ambiguidades nos critérios de diagnóstico foram mitigados. Estes desenvolvimentos resultaram nas definições de alterações de comportamento e transtornos mentais que podem ser encontrados no CID-10 (WELLS, R. H. C.. et al., 2011)

Com o objetivo de oferecer critérios confiáveis e objetivos de diagnóstico, o *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders* (DSM) foi publicado (AMERICAN, 2014) e tem sido o principal instrumento usado para diagnosticar transtornos mentais, principalmente no ambiente clínico. Transtornos mentais costumam ser consequência de alterações comportamentais, como já descrito. Atualmente, a maioria das alterações comportamentais são classificadas em dois grupos, e, dependendo de como os sintomas observados, são enquadrados em alterações Comportamentais Internalizantes ou alterações Comportamentais

Externalizantes (ACHENBACH et al., 2016; PETTY et al., 2008 ; WRIGHT, 2015;WALTON; PAVLOS, 2015), tendo, essa divisão, apresentado uma boa previsibilidade quanto ao surgimento de transtornos mentais (Wright, J.D, 2015).

Em países subdesenvolvidos e em desenvolvimento, como o Brasil, questões quanto à saúde mental de crianças e adolescentes muitas vezes são negligenciadas (KIELING et al., 2011). Diante disso, poucos estudos longitudinais trabalham com populações com características intrínsecas e ambientais semelhantes àquelas vistas nestes países. O Brasil é um país com alta taxa de miscigenação na população, fato que se deve a sua história de ocupação. Estudos em diferentes grupos étnicos nos Estados Unidos demonstram uma maior suscetibilidade em comunidades majoritariamente latinas do que em outras etnias (MCLAUGHLIN; HILT; NOLEN-HOEKSEMA, 2007; GUIAO; ADAMS THOMPSON, 2004). Assim como, comunidades majoritariamente afrodescendentes apresentam menores índices de depressão que comunidades majoritariamente brancas e latinas (MERIKANGAS K. R *et al.* 2009). Apesar disso, pessoas do sexo masculino, afrodescendentes, nos Estados Unidos, apresentaram maior susceptibilidade do que a população branca em desenvolver alterações comportamentais relacionados a violência e agressão (MCLAUGHLIN; HILT; NOLEN-HOEKSEMA, 2007). Diante disso, existem poucas evidências na literatura quanto a essa tendência de comunidades de origens étnicas expressarem alterações de comportamento distintas (MCLAUGHLIN; HILT; NOLEN-HOEKSEMA, 2007). É possível que estas alterações na expressão dos transtornos estejam relacionadas a fatores ambientais, como o tipo de disciplina aplicada pelos pais, ou a fatores genéticos (MCLAUGHLIN; HILT; NOLEN-HOEKSEMA, 2007; ROBERTS; ROBERTS; XING, 2007; TWENGE; NOLEN-HOEKSEMA, 2002; GUIAO; ADAMS THOMPSON, 2004)

A cidade de Salvador, no Nordeste do Brasil, é composta pela maior população negra fora da África, além de haver muitos indivíduos que se declaram miscigenados (IBGE, 2008). Portanto, torna-se relevante a avaliação dos fatores ambientais e imunológicos associados ao desenvolvimento de alterações comportamentais nessa população, com o objetivo de elucidar questões étnicas que podem estar relacionadas ao desenvolvimento deles.

### 1.5 Epidemiologia de alterações Comportamentais

As aplicações das ferramentas epidemiológicas à psiquiatria culminaram no desenvolvimento de metodologias, incluindo a introdução de revisões estruturadas e semiestruturadas e métodos estatísticos para estimar prevalência e correlação de transtornos mentais com fatores diversos (ACHENBACH *et al.*, 2016). Atualmente, acredita-se que o campo da epidemiologia psiquiátrica alcançou a maturidade. Logo, as futuras pesquisas devem buscar as relações entre múltiplos fatores de risco e como estes interagem ao longo dos anos no desenvolvimento de transtornos mentais. É provável que a maioria dos transtornos mentais envolve uma mistura complexa entre múltiplos fatores genéticos e ambientais interagindo em um padrão não-linear (MERIKANGAS K. R. *et al.* 2009).

Apesar da epidemiologia psiquiátrica adulta ter alcançado sua maturidade, o mesmo ainda não pode ser dito para estudos com indivíduos mais jovens. O que é um fato importante no que se refere ao melhor entendimento e tratamento de transtornos, já que a maior parte das alterações surgem nessa fase da vida. Apesar disso, a recomendação da literatura é que a futura geração de pesquisas na epidemiologia psiquiátrica foque em compreender como múltiplos fatores de risco interagem ao longo dos anos para culminar no desenvolvimento das alterações (ACHENBACH *et al.*, 2016), o que reforça a utilidade deste estudo, que, por sua vez, possui foco no campo da epidemiologia analítica do desenvolvimento desses transtornos.

### 1.5.2 Epidemiologia Analítica

A epidemiologia analítica oferece diferentes perspectivas sobre uma doença, mais focada em encontrar fatores relacionados ao desenvolvimento e causa do que nas características de uma doença (ACHENBACH *et al.*, 2016). Entretanto, ambos tipos de pesquisa são importantes para entender uma doença, a epidemiologia analítica é capaz de oferecer respostas que podem determinar a origem de uma doença e quais as razões para seu avanço na população, enquanto a epidemiologia descritiva observa que mulheres apresentam maiores escores para síndromes internalizantes (SLADE, 2007). A epidemiologia analítica busca identificar fatores ambientais, imunológicos e genéticos associados ao desenvolvimento de alterações.

Os estudos de epidemiologia analítica também buscam oferecer bases para o desenvolvimento de táticas de prevenção, especialmente na saúde pública. Neste contexto, o Brasil possui um dos maiores e mais completos sistemas de saúde pública do mundo, O Sistema Brasileiro de Saúde Pública ou Sistema Único de Saúde (SUS) que, por sua vez, oferece a oportunidade de o país ser pioneiro no desenvolvimento de táticas de saúde pública direcionadas à saúde mental da população. Para este fim, pesquisas focadas em epidemiologia analítica de transtornos mentais, como este estudo, oferecem o conhecimento necessário para a implementação deste tipo de projeto.

Compreender o desenvolvimento de alterações comportamentais tem sido o foco de pesquisas de epidemiologia analítica, principalmente tendo em vista que os casos de alterações comportamentais tiveram um grande aumento nos últimos anos (OMS, 2022). Existem novidades interessantes no campo da genômica aplicada as alterações comportamentais, assim como, uso de biomarcadores como citocinas associadas à presença dessas alterações. Apesar disso, é importante ressaltar que ainda existem lacunas no conhecimento quanto ao papel de certos fatores.

## 1.6 Etiologia de Alterações Comportamentais

A maior parte dos adultos, hoje vivendo com alterações comportamentais, apresentaram os primeiros sintomas durante as duas primeiras décadas de vida (LA MAISON *et al.*, 2018). Isto significa que a infância e os anos da adolescência são os principais períodos na qual as pessoas desenvolvem alterações comportamentais. A maior parte dos estudos atribuem o surgimento dessas alterações neste período ao fato que durante estes anos o cérebro ainda está em desenvolvimento, tornando-o assim mais sensível a fatores ambientais (WANG *et al.*, 2017; ZWICKER; DENOVAN-WRIGHT; UHER, 2018).

Outro fator que contribui para o desenvolvimento das alterações comportamentais é o genético (ZWICKER; DENOVAN-WRIGHT; UHER, 2018). É bem compreendido na literatura que algumas pessoas possuem uma maior predisposição para desenvolver alterações comportamentais, devido a variantes genéticas, por exemplo, pessoas com certas mutações no gene *FKBP5* têm demonstrado maior sensibilidade a fatores estressores ambientais nos primeiros anos de vida (WANG *et al.*, 2017). Apesar disso, nem todas as variantes genéticas com potencial para afetar o desenvolvimento dessas alterações foram identificadas e descritas. Além disso, a maior parte dos estudos que buscam compreender este fenômeno trabalham com modelos de interação Gene X Ambiente (G x E) ou ambiente X Ambiente (E x E) (ZWICKER; DENOVAN-WRIGHT; UHER, 2018), reforçando a importância de identificar quais fatores ambientais estão associados significativamente com o desenvolvimento destas alterações. Assim como, oferecer suporte para pesquisas que buscam compreender o papel da interação de variantes genéticas com fatores ambientais, visando identificar variantes genéticas que resultam em vulnerabilidade ou resistência de indivíduos aos fatores ambientais.

### 1.6.1 Fatores Ambientais

Ao investigar tópicos sobre saúde mental, é importante levar em consideração a interação do indivíduo com seu ambiente, pois o ambiente é um grande determinante no desenvolvimento e funcionamento da capacidade cognitiva dos organismos (ZWICKER; DENOVAN-WRIGHT; UHER, 2018). Apesar disso, a mente humana ainda é pouco compreendida. Por esta razão, é importante investigar como diferentes fatores ambientais podem afetar a etiologia de transtornos mentais.

Entre os principais fatores ambientais associados ao desenvolvimento de alterações comportamentais em adultos, está a baixa renda, este padrão não foi replicado em crianças e adolescentes de maneira consistente (MERIKANGAS K. R *et al.* 2009). Alguns estudos, inclusive, não encontraram relação entre renda familiar baixa e o desenvolvimento de alterações comportamentais (MERIKANGAS K. R *et al.*, 2009). Além disso, as interações entre a criança e seus colegas podem ter um impacto significativo no desenvolvimento destas alterações (BEESON; BRITTAIN; VAILLANCOURT, 2020; KAESS, 2018). Outro fator bem explorado que pode influenciar o desenvolvimento de alterações comportamentais, são as táticas no cuidado parental. Apesar de diversos estudos observarem estes fatores, ainda há muito debate a respeito do tipo de disciplina a ser adequada ao desenvolvimento saudável de uma criança (OLLENDICK, 2018). Já foi observado, inclusive, uma relação recíproca entre estresse parental e alterações comportamentais, criando-se um ciclo vicioso de comportamentos e aumento de sintomas (SERBIN *et al.*, 2015). Também foi observado que a diminuição de sintomas externalizantes e a estabilização de sintomas internalizantes diminuíram o estresse parental (STONE *et al.*, 2015). Além disso, violência doméstica também tem sido demonstrada com um papel significativo no desenvolvimento de alterações comportamentais, independente de fatores genéticos (JAFFEE *et al.*, 2002). Logo, é possível concluir que uma rede complexa de fatores ambientais e genéticos afeta o desenvolvimento de comportamentos internalizantes e externalizantes (VAN DER VALK *et al.*, 2003). Entretanto, também já foi observado que processos inflamatórios estão associados ao desenvolvimento de alterações comportamentais. Dessa forma, além de citocinas inflamatórias poderem ser utilizadas para reconhecer alterações comportamentais, a presença destas também podem indicar futuras doenças crônicas como consequência

de processos inflamatórios causados por alterações comportamentais, aumentando a preocupação quanto à saúde mental de crianças e adolescentes (SLOPEN; KUBZANSKY; KOENEN, 2013). Processos inflamatórios na mãe durante a gravidez podem ser indicadores de futuros transtornos comportamentais na criança (BARKER *et al.*, 2018). Portanto, reconhecer o papel de fatores ambientais e processos inflamatórios no desenvolvimento desses transtornos oferece oportunidade para intervenções precoces e para alterações comportamentais. Assim como, de doenças fora do âmbito da saúde mental.

### 1.6.2 Processos inflamatórios

Processos inflamatórios têm sido associados ao desenvolvimento de alterações comportamentais em diversos estudos (LICHTBLAU *et al.*, 2013). Assim como, transtornos mentais apresentam com co-ocorrência com doenças que envolvem mecanismos inflamatórios em sua patofisiologia, como câncer e doenças cardiovasculares (BENROS, M. E. *et al.* 2013). Estas observações têm sentido biológico, pois, durante situações de estresse, há uma resposta biológica que inclui inflamação e alterações neurofisiológicas que modulam processos afetivos, cognição e comportamento (MAYDYCH, 2019). A ativação experimental de processos inflamatórios tem demonstrado induzir sintomas de transtornos mentais em humanos e animais (HOWREN, M. B.; LAMKIN, D. M.; SULS, J. 2009; DANTZER, R. *et al.* 2008). Outros estudos empíricos também registraram a interação entre níveis de citocinas no sangue e sintomas de alterações comportamentais (LEE *et al.*, 2020; MEVORACH *et al.*, 2021). Isso está de acordo com observações de que citocinas pró-inflamatórias podem induzir mudanças no funcionamento de neurotransmissores e processos neuroendócrinos relacionados a transtornos mentais (HOWREN, M. B.; LAMKIN, D. M.; SULS, J. 2009). Consequentemente podendo resultar em alterações hormonais no corpo de indivíduos com alterações comportamentais (SADOCK; SADOCK; RUIZ, 2017). Assim como, o fato de doenças autoimune e infecções são possíveis fatores de risco para o desenvolvimento de transtornos mentais (BENROS, M. E. *et al.* 2013).

A circulação de citocinas no cérebro pode ocorrer como consequência do comprometimento da barreira hematoencefálica (BHE) durante períodos de estresse, infecção e inflamação (BECHTER, K. *et al.* 2010; DIAMOND, B. *et al.* 2009). Este comprometimento da BHE já foi observado em pacientes com depressão aguda (IRANI, S.; LANG, B. 2008). Assim como, foi observado que citocinas pró-inflamatórias podem ativar o eixo Hipotálamo-Pituitário-Adrenal (HPA), que auxilia na integração entre sistema nervoso e endócrino (RENNER; PETROWSKI, 2021). Portanto, a presença de citocinas, principalmente, pró-inflamatórias podem atuar no desenvolvimento de transtornos mentais através destes mecanismos.

Algumas citocinas associadas a alterações comportamentais na literatura são a Interleucina IL-6, IL-10, IL-13 e Interferon IFN- $\gamma$  (LEE *et al.*, 2020; MEVORACH *et*



*al.*, 2021; MECHAWAR; SAVITZ, 2016). Por fim, há registro da associação entre a atividade de outras citocinas, como a interleucina-1 $\beta$ , e psicopatologias (ACHENBACH; DUMENCI, 2001).

### 1.6.2.1 Interferon- $\gamma$ (IFN- $\gamma$ )

O IFN- $\gamma$  atua em sinergia com outros interferons, como o IFN- $\alpha$  na atividade antiviral e antiparasitária e é produzido por células T, B e NK. Entretanto, seu principal papel é como imunomodulador inibindo células que sintetizam algumas citocinas como IL-5, IL-10 e IL-13. IFN- $\gamma$  também apresenta atividade pró-inflamatória, já associada à depressão na literatura (SLOPEN; KUBZANSKY; KOENEN, 2013; KATILA *et al.*, 1991). O IFN- $\gamma$  já foi identificado como a citocina com maior relação ao estado mental (JANSEN *et al.*, 2015). Os interferons são um grupo de citocinas que costumam ter papel antiviral, citostático e imunomodulador (KATILA *et al.*, 1991). Sua liberação está associada a estresse crônico juntamente com a IL-6. Juntas, elas estimulam o sistema neuroendócrino a liberar mais citocinas pela micróglia. Esta resposta química apresenta reflexos no comportamento (PÉREZ-BARRIENTOS, 2022). Entretanto, também existem estudos que demonstram menor expressão de citocinas em indivíduos com depressão, entre elas a INF- $\gamma$  (MECHAWAR; SAVITZ, 2016).

Alguns estudos observaram baixa ou nenhuma associação entre alterações comportamentais e citocinas (VAN DEN AMEELE *et al.*, 2018; BELEM DA SILVA *et al.*, 2017). Entretanto, estes estudos apresentam falhas metodológicas já discutidas por Achenbach e colaboradores (2016), por exemplo, utilizaram observaram apenas um tipo de alteração comportamental, internalizante ou externalizante. Portanto, é importante compreender os processos inflamatórios em alterações comportamentais para o desenvolvimento de novos protocolos e tecnologias para ajudar pacientes. Por exemplo, o estudo de níveis de citocina sanguínea pode representar mais uma ferramenta para o diagnóstico de alterações comportamentais. Assim como, identificar respostas inflamatórias a estresses ambientais desencadeadores de sofrimento mental (PÉREZ-BARRIENTOS, 2022; MECHAWAR; SAVITZ, 2016).

### 1.6.2.2 Interleucina-5 (IL-5)

A principal fonte de citocina IL-5 são os linfócitos T 36. Esta citocina é um fator específico de crescimento dos eosinófilos. Assim como em células B são importante fator para a mudança de classe para produção de IgA (CISTIA, D. C. 2015). Altos níveis de produção desta citocina têm sido associado a asma e síndrome hipereosinofílica (“IL-5 Polyclonal Antibody (PA5-96761)”, [s.d.]). A IL-5 já demonstrou aumentar 24 horas após exposição a um período de estresse, semana de provas, em estudantes universitários (KEWALRAMANI; BOLLINGER, 2007). Além disso, em estudos com jovens adultos, IL-5 foi associado às subescalas de Raiva-Hostilidade e Ansiedade-Tensão na escala do *Profile of Mood States* (POMS), outra ferramenta semelhante ao CBCL que trabalha com dimensões para avaliar o estado mental dos indivíduos (JANSEN, 2015). Logo, a IL-5 tem demonstrado ter um potencial como possível biomarcador para alterações comportamentais, sendo relevante o seu estudo associado aos referidos alterações

### 1.6.2.3 Interleucina-10 (IL-10)

A IL-10 tem efeito de inibir a síntese de outras citocinas (IFN- $\gamma$ , IL-2, IL-12, TNF- $\beta$ ). Pode ser produzida por células Th0, Th1, Th2 ativadas, linfócitos B, monócitos ativados e mastócitos, mas é principalmente produzida por CD8+ (CISTIA, D. C. 2015). É uma citocina de atividade anti-inflamatória, cuja interação com a IL-6 tem papel importante no desenvolvimento e persistência de sintomas associados a alterações comportamentais, como já discutido (Voorhees, J. *et al*, 2013) Há também estudos que registram nenhuma associação significativa entre IL-10 e alterações internalizantes (BELEM DA SILVA *et al.*, 2017). Entretanto, é importante reforçar os vieses metodológicos de se trabalhar apenas com uma dimensão de alterações internalizantes, negligenciando a outra face da externalização, tornando os resultados, neste aspecto, pouco confiáveis (ACHENBACH *et al.*, 2016). Apesar disso, IL-10 já foi associada com menores riscos de alterações internalizantes e problemas comportamentais relacionados a atenção em indivíduos do sexo masculino, enquanto apresentou resultado de redução de risco para comportamentos externalizantes em indivíduos do sexo feminino (ZHOU *et al.*, 2022). Portanto, novas pesquisas devem investigar seu papel na ocorrência de alterações internalizantes. Além disso, a importância da IL-10 nos processos regulatórios imunológicos a torna outra citocina candidata a utilização como biomarcador. Uma vez que processos inflamatórios estão associados a alterações comportamentais (ZHOU *et al.*, 2022; MEDNOVA *et al.*, 2022). Portanto, novas pesquisas devem investigar seu papel na ocorrência de alterações internalizantes. Além disso, a importância da IL-10 nos processos regulatórios de inflamações o torna outra citocina candidata a utilização como biomarcador de transtornos comportamentais.

#### 1.6.2.4 Interleucina-13 (IL-13)

A IL-13 é uma citocina que estruturalmente se assemelha a IL-4, assim como, gera resposta semelhante nas células. Entretanto, acredita-se ter ação independente (MINTY, A. et al. 1993). Logo, acredita-se que a IL-13 atua regulando a resposta imunológica em reações alérgicas e em algumas doenças como a asma. A IL-13 não é expressa no coração, pulmão, cérebro, placenta, fígado e músculos esqueléticos. Esta citocina também tem atividade anti-inflamatória, ou seja, reduz a expressão de citocinas pró-inflamatórias como IL-10, já foi associada a depressão aguda e alcoolismo na literatura (MEDNOVA *et al.*, 2022). Entretanto, seu principal papel costuma estar associado a reações alérgicas, principalmente respostas nas vias aéreas (MINTY *et al.*, 1993). Além disso, alguns estudos buscando associações entre asma e alterações comportamentais demonstram que provavelmente existem fatores patofisiológicos em comum (KEWALRAMANI; BOLLINGER, 2007).

A associação da IL-13 em alterações comportamentais ainda precisa ser melhor investigada (MAO *et al.*, 2018). Entretanto, pode-se encontrar na literatura a observação da variação nos níveis de citocinas IL-13 sendo associada significativamente a alguns casos de transtornos e não para outros. Indivíduos com depressão aguda, por exemplo, são descritos com valores altos de IL-13, enquanto aqueles com bipolaridade não repetiram o mesmo padrão (MAO *et al.*, 2018). Estes resultados são significativos, pois ambos os transtornos são considerados como estados depressivos, mas apresentam respostas inflamatórias diferentes. Por essa razão, é importante investigar o papel de IL-13 como possível biomarcador de alterações comportamentais.

## 1.7 Tratamento e Prevenção

Apesar da maior parte das pesquisas demonstrarem que alterações comportamentais são causadas por uma complexa rede de interações, entre fatores ambientais, imunológicos e genéticos que ainda não é completamente entendida, estas alterações ainda podem ser tratadas com eficácia (MERIKANGAS, K. R *et al.* 2009). A maior parte das alterações podem ser tratadas com terapia, principalmente, através de terapia cognitiva-comportamental e interpessoal. Em casos mais severos, antidepressivos e remédios para estabilização do humor tem apresentado resultados substanciais (MERIKANGAS, K. R *et al.* 2009), especialmente, quando combinados com terapia. Além disso, hábitos auxiliares também têm demonstrado resultado significativo na diminuição de sintomas de transtornos mentais, como atividade física regular e aumento do contato com a natureza (PAOLUCCI *et al.*, 2018). Estes resultados se mantêm promissores em idosos.

Até o momento, não se conhecem mecanismos e tratamentos preventivos que possam evitar o surgimento de alterações comportamentais. Esse fato reforça a importância do desenvolvimento de pesquisas objetivando o melhor entendimento das mais diversas interações que possam promover como desfecho essas alterações, já que o diagnóstico nos estágios iniciais e tratamento precoce podem garantir uma maior qualidade de vida para pessoas com transtornos mentais, principalmente, diminuindo a severidade dos sintomas (SADOCK; SADOCK; RUIZ, 2017). Dessa forma, pessoas diagnosticadas com transtornos mentais podem viver vidas saudáveis, produtivas e estáveis. Apesar disso, como mencionado, ainda há grande interesse em diminuir o avanço dos transtornos mentais na população (OMS, 2022). Portanto, se torna mais importante do que nunca compreender os fenômenos associados ao desenvolvimento destes transtornos para estabelecer medidas de prevenção.

### 1.8 Biomarcadores na Psiquiatria

Alterações relacionadas à saúde mental vem sendo diagnosticadas através da descrição dos sintomas no lugar de sinais moleculares ou de imagem do organismo. Este fato é devido a região afetada nessas alterações ser a mente humana, que por sua vez, ainda é pouco compreendida. A busca por sinais físicos dessas alterações também foi repleta de frustrações. Entretanto, alguns sinais faciais ainda demonstram alguma confiabilidade, como as dobras de Veraguth (SADOCK; SADOCK; RUIZ, 2017). Assim como, o Sinal Ômega, que vem sendo defendido por linhas de pesquisa que buscam sinais objetivos de alterações comportamentais (SARAF; NATH, 2019). Neste cenário, a busca por biomarcadores que ajudem a identificar alterações vem sendo um objetivo na medicina do século XXI (PRATT; HALL, 2018)

Biomarcadores são sinais objetivos que indicam o estado de um paciente, que podem ser medidos com exatidão e reprodutibilidade. É importante ressaltar a diferença entre sinais médicos, como biomarcadores, e sintomas. Sintomas estão associados à percepção do paciente enquanto sinais são mais objetivos (STRIMBU; TAVEL, 2010). No contexto da psiquiatria que dispõe exclusivamente de sintomas a busca por sinais, através de biomarcadores se faz necessária, inclusive para avançar na compreensão dos transtornos. O termo, biomarcadores, é muitas vezes utilizado de maneira equivocada na literatura, sendo atribuído a moléculas cuja pesquisa ainda não garante os pré-requisitos conceituais exigidos. Logo, este estudo identifica o potencial de certas moléculas como possíveis biomarcadores. Entretanto, ainda são necessários mais estudos que comprovem a eficácia das moléculas investigadas.

Atualmente, com o advento de grandes avanços na genética, epidemiologia e neurociência, o funcionamento do circuito do cérebro está cada vez mais bem descrito. Dessa forma, compreender os mecanismos responsáveis pelo comportamento pode um dia se tornar realidade (PRATT; HALL, 2018). Neste cenário, os biomarcadores se tornaram peça-chave no diagnóstico e prognóstico de transtornos mentais. Portanto, investigações quanto às moléculas candidatas serão estudos de grande relevância para o desenvolvimento de novas tecnologias.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

Investigar a associação de fatores ambientais e imunológicos aos transtornos comportamentais internalizantes e externalizantes em crianças.

### 2.2 Objetivos Específicos

(I) Caracterizar amostra de crianças da cidade de Salvador (Bahia, Brasil) quanto à ocorrência de transtornos internalizante e externalizante;

(II) Avaliar a associação de fatores ambientais citados na literatura no desenvolvimento de alterações comportamentais em crianças;

(III) Identificar citocinas associadas aos casos de alterações comportamentais em crianças.

Comentado [1]: Marcar as Seções com quebra de página.



### 3. CAPÍTULOS EM FORMATO DE ARTIGO

#### 3.1 CAPÍTULO ÚNICO

##### TÍTULO

**“Fatores Ambientais e Citocinas Associadas a alterações comportamentais em Crianças”**

##### AUTORES

Daniel Evangelista Santos<sup>1</sup>, Alberto Oliveira Moreira Santos<sup>1</sup>, Edson Henrique Bispo Amaral<sup>1</sup>, Caroline Alvez Feitosa <sup>2</sup>, Darci Neves dos Santos <sup>3</sup>, Maurício Lima Barreto <sup>4</sup>, Camila Alexandrina Viana de Figueiredo <sup>5</sup>, Neuza Maria Alcântara-Neves <sup>6</sup>, Ryan dos Santos Costa <sup>3</sup>, Hatilla dos Santos Silva <sup>5</sup>, Pablo Rafael Silveira Oliveira<sup>1</sup>, Gabriela de Sales Guerreiro Britto<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Laboratório de Genômica de Doenças Complexas - Instituto de Biologia, Universidade Federal da Bahia

<sup>2</sup> Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública (EBMSP), Salvador, Bahia, Brasil

<sup>3</sup> Instituto de Saúde Coletiva, Universidade Federal da Bahia, Salvador, Bahia, Brasil

<sup>4</sup> Centro de Integração de Dados e Conhecimentos para Saúde (CIDACS), Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Salvador, Bahia, Brasil

<sup>5</sup> Laboratório de Imunofarmacologia e Biologia Molecular, Instituto de Ciências da Saúde (ICS), Universidade Federal da Bahia (UFBA), Salvador, Bahia, Brasil

<sup>6</sup> Laboratório de Alergia e Parasitologia, Instituto de Ciências da Saúde – UFBA

**PERIÓDICO CIENTÍFICO:** Biomarkers in Neuropsychiatry

**HOME PAGE:** <https://www.sciencedirect.com/journal/biomarkers-in-neuropsychiatry>

**DESTAQUES**

- O tipo de disciplina e o sofrimento mental do cuidador são fatores associados às alterações de comportamento internalizante e alterações de comportamento externalizante em crianças brasileiras.
- Perfis de imunofenótipo são pouco associados à ocorrência de DCI e DCE.
- As citocinas IL-10, IL-13 e o IFN- $\gamma$  são potenciais biomarcadores de DCI e DCE em crianças.
- No presente estudo, a IL-13 apresentou o melhor potencial como biomarcador de DCI e DCE.

## 1. INTRODUÇÃO

Problemas de saúde mental acometem entre 10% a 20% da população mundial de crianças e adolescentes (Kieling, C. *et al*, 2011). Segundo Steel e colaboradores (2014), em meta análise realizada entre 1980 e 2013, cerca de 29% da população de 63 países, relatam ter tido alguma alteração do comportamento ao longo da vida. Segundo dados publicados no 1º Boletim Quadrimestral sobre Benefícios por Incapacidade (MS-BRASIL, 2017), transtornos mentais e comportamentais determinaram cerca de 9% de auxílios-doença e aposentadorias por invalidez no Brasil, no período entre 2012 e 2016, representando a terceira principal causa de afastamento do trabalho no referido período.

As primeiras duas décadas da vida são os anos mais decisivos, pois a maior parte das pessoas desenvolvem transtornos mentais neste período (La Maison *et al.*, 2018). Logo, a saúde mental dos jovens é um dos mais importantes fatores para garantir saúde e qualidade de vida à população (OMS, 2022; Kathleen R. M. *et al.* 2009). A identificação de alterações comportamentais em crianças e adolescentes aumentou nas últimas décadas (Rocha, T. *et al.*, 2013). Dentre os sintomas dessas alterações em crianças e adolescentes, estão alguns mais conhecidos, como retração, muito associada à depressão, mas também sintomas menos conhecidos, como o comportamento desafiador (Achenbach, T.M., & Rescorla, L.A., 2001). Identificar precocemente quais fatores estão relacionados ao desenvolvimento de alterações comportamentais é de interesse na saúde pública (La Maison *et al.*, 2018; Rocha, T. *et al.*, 2013). Apesar disso, é importante ressaltar que ainda existem lacunas no conhecimento quanto ao papel de fatores ambientais no desenvolvimento dessas condições.

Ao investigar tópicos sobre saúde mental, é importante considerar a interação do indivíduo com seu ambiente. Pois o ambiente é um fator determinante no desenvolvimento e funcionamento da capacidade cognitiva de um indivíduo (Uher, R. & Zwicker, A., 2017). A maior parte dos estudos atribuem o surgimento dessas alterações neste período ao fato que durante estes anos o cérebro ainda está em desenvolvimento, tornando-o assim mais sensível a fatores ambientais (Wang, Qingzhong *et al.*, 2017). Entre os principais fatores ambientais associados ao

desenvolvimento de alterações comportamentais em adultos está a baixa renda e o tipo de disciplina aplicada pelos cuidadores na infância (Kathleen R. M. *et al.* 2009).

Processos inflamatórios têm sido associados ao alterações comportamentais em diversos estudos (Assary, Elham *et al.*, 2017; Lee, Hojun *et al.*, 2020; Mevorach, Tomer *et al.*, 2021; Oster, R. *et al.*, 2017). Durante situações de estresse, há uma resposta biológica que inclui inflamação e alterações neurofisiológicas que modulam processos afetivos, cognição e comportamento (Maydych, M., 2019). Além disso, outros estudos registraram a interação entre níveis de citocinas no sangue e sintomas de alterações comportamentais (Assary, Elham *et al.*, 2017; Lee, Hojun *et al.*, 2020; Mevorach, Tomer *et al.*, 2021; Oster, R. *et al.*, 2017). Assim como, foi observado que citocinas pró-inflamatórias podem ativar o eixo Hipotálamo-Pituitária-Adrenal (HPA), que auxilia na integração entre sistema nervoso e endócrino (Crane *et al.*, 2003, Renner, V. *et al.*, 2021), podendo resultar em alterações hormonais no corpo de indivíduos com alterações comportamentais. Algumas das citocinas associadas a alterações comportamentais na literatura foram a, Interleucina-10, Interleucina-13 e INF- $\gamma$  (Assary, Elham *et al.*, 2017; Lee, Hojun *et al.*, 2020; Mevorach, Tomer *et al.*, 2021; Dowlati, Yekta *et al.*, 2009; Dhabhar, Firdaus *et al.*, 2009; Mechawar, N. *et al.*, 2016). Por fim, há registro da associação entre a atividade de outras citocinas, como a interleucina-1 $\beta$ , e psicopatologias (Achenbach, T., 2021)

No presente estudo, foram avaliados fatores ambientais potencialmente associados ao desenvolvimento de alterações de comportamento em crianças e adolescentes de Salvador (Brasil). Assim como, níveis de citocinas com potencial como biomarcadores. A coorte é composta por crianças recrutadas pelo projeto *Social Changes, Asthma and Allergy in Latin America* (SCAALA). Portanto, a região de estudo é correspondente à área Nordeste do país, que possui uma população miscigenada e com grande quantidade de indivíduos de ancestralidade africana (Machado, T. M. B., 2008).

## **2. MÉTODOS**

### **2.1 Amostra populacional e considerações éticas**

A Coorte estudada é composta por crianças recrutadas pelo projeto *Social Changes, Asthma and Allergy in Latin America* (SCAALA) em Salvador, Brasil. As características da coorte e a metodologia para a coleta de dados foram previamente descritas (Barreto *et al.* 2006). O estudo populacional SCAALA foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa do Instituto de Saúde Coletiva da Universidade Federal da Bahia (registro 003-05/CEP-ISC). Os termos de consentimento livre e esclarecido (TCLE) de todos os participantes para todas as entrevistas (iniciais e de acompanhamento) e coleta do sangue foram concedidos por seus responsáveis legais. Todos os métodos e protocolos foram realizados de acordo com os princípios da Declaração de Helsinki.

A análise foi feita com indivíduos na infância, entre 6 e 12 anos (N=1445). Os dados coletados foram organizados utilizando o programa SPSS, versão 25 (IBM Corp., Armonk, N.Y., USA). Assim como, os dados sociodemográficos investigados foram selecionados devido apresentarem, na literatura, relevância em análises de associação com os desfechos observados. (Hakulinen, C., Mok, P.L.H., Horsdjal, H.T. *et al.* 2020; Peters, T. A. *et al.* 2019; Keijser, R *et al.* 2021). Os dados foram categorizados quando necessário.

## 2.2 Instrumentos de avaliação psicológica

Foram aplicadas diferentes ferramentas. Para identificar sintomas sugestivos de alterações comportamentais foi aplicado o questionário "*Child Behavior Checklist*" (CBCL) (Achenbach, T. M., 1991) em 2005, e o "*Youth Self-Report*" (YSR) nos indivíduos com idade superior a 11 anos em 2006. Além disso, também foi avaliado o tipo de disciplina aplicada pelo cuidador através do "*Conflict Tactics Scales: Parent-child Version*" (CTSPC), aplicado em 2006. No retorno de 2013, foi aplicado o "*Self-Report Questionnaire*" (SRQ-20) (Beusenbergh, M. Orley, John H & World Health Organization, 1994) para avaliar o sofrimento mental do cuidador.

O CBCL é um questionário que visa identificar sintomas que podem estar relacionados a alterações comportamentais em crianças, entre 4 e 12 anos, e é respondido pelos pais ou responsáveis pela criança. O CBCL possui uma escala orientada à conversão dos escores T obtidos com o CBCL aos parâmetros do DSM considerada confiável (Nakamura, Brad *et al.*, 2009). O CTSPC é uma ferramenta

para avaliar o tipo de disciplina e a presença de maus tratos (violentos ou não) na criação da criança. Por fim, o SRQ-20 é uma ferramenta de autodiagnóstico que foi aplicada nos adultos que cuidam das crianças estudadas. Todas as ferramentas foram traduzidas e validadas para a população brasileira (Bordin, I. A. *et al.*, 1995; Bonfim, C.B. *et al.*, 2011; Rocha, M.M., 2012; Iacoponi E, Mari JJ., 1998). Além disso, foi observado que o CBCL tem alta sensibilidade (87%), identificando 95% dos casos moderados, e 100% dos casos graves de alterações comportamentais (Bordin, I. A. *et al.*, 1995).

### **2.3 Identificação de Casos com Sintomas**

Os sintomas de alterações comportamentais foram avaliados através dos escores T pelas respostas do CBCL. Diante disso, os indivíduos com escore T igual ou superior a 64 em uma das escalas de alterações comportamentais (internalizante e externalizante) foram inseridos no grupo dos casos (Achenbach, T.M., & Rescorla, L.A., 2001; Bordin, I. A. *et al.*, 1995). Já indivíduos limítrofes entre 60 e 63 foram inseridos no grupo de controles, junto com os indivíduos com escore inferior a 60. Em seguida, foram feitos testes de normalidade com os dados de resposta aos questionários. O teste T de student, teste de normalidade e as frequências foram realizados no programa SPSS, versão 25.

Durante o período de 2005 a 2013, foram realizadas coletas de dados referentes a fatores sociodemográficos/ambientais. Um questionário foi empregado para avaliar o contexto socioambiental das crianças e adolescentes. Esses questionários foram aplicados em diferentes retornos dos indivíduos. Sendo o dado de renda familiar mensal e escolaridade materna obtidos em 2013 no retorno dos indivíduos.

### **2.4 Citocinas**

As amostras de sangue periférico foram coletadas durante o ano de 2013. As citocinas do sangue periférico foram dosadas por ELISA. A concentração das citocinas IL-10, IL-5, IL-13 e IFN- $\gamma$  foi aferida por demonstrarem relação com alterações comportamentais na literatura (Lichtblau, N. *et al.*, 2013; Katila, H. *et al.*, 1991; Pérez-

Barrientos, J. F., 2022; Mechawar, N. *et al*, 2016; Ameele, S. *et al*, 2018, Silva, C. *et al*, 2017). Os níveis de citocinas foram categorizados em perfis de resposta, após estímulo *ex vivo* de células mononucleares do sangue dos indivíduos com estimuladas com o mitógeno *Pokeweed*. Metodologia já descrita para a coorte (Figueiredo C. *et al.*, 2013). Por fim, os indivíduos foram categorizados de acordo com seu perfil imunológico. Esses foram definidos a partir da combinação dos resultados positivos para presença das citocinas IL-5, IL-13, IL-10 e IFN- $\gamma$ , identificadas através do cultivo de células oriundas da coleta de sangue venoso (Barreto, M. *et al.*, 2006; Figueiredo C *et al.*, 2013). Os perfis foram definidos previamente, através de Análise de Classes Latentes (LCA), indivíduos com baixa produção de citocinas foram considerados irresponsivos. O grupo 'responsivo' foi composto por indivíduos com produção de todas as citocinas (IFN- $\gamma$ , IL-5, IL-10 e IL-13), e o grupo 'intermediário' caracterizou-se pela produção apenas de IL-10 e IFN- $\gamma$  (citocinas do perfil TH1 e T-Reg), mas com a minoria apresentando IL-5 e IL-13 (citocinas do perfil TH2) (Figueiredo C *et al.*, 2013).

## 2.6 Análises de associações

Testes de Qui-quadrado de Pearson (Pearson, K., 1900) foram feitos através do programa SPSS (IBM Corp., Armonk, N.Y., USA). Para identificar uma relação entre uma variável e a presença de sintomas sugestivos de alterações comportamentais consideramos que o valor de p deveria ser igual ou inferior a 0.05, rejeitando-se a hipótese nula.

Por fim, além do teste de qui-quadrado de independência, foi necessário a utilização do Teste U de Mann-Whitney. Este teste avalia a diferença entre dois grupos em uma variável ordinal sem distribuição específica (Mann & Whitney, 1947; Wilcoxon, 1945). O Teste U foi utilizado para analisar a relação entre a variação na concentração de citocinas no sangue periférico das crianças. Isto foi necessário devido à grande variância nos dados de citocinas. O Teste U também foi feito através do programa SPSS (IBM Corp., Armonk, N.Y., USA).

## 3. RESULTADOS

### 3.1 Características da Coorte

A população estudada foi composta por 1.445 indivíduos nascidos entre 1994 e 2000, ou seja, com idade entre 4 e 11 anos no momento da primeira coleta (2005). A população estudada caracteriza-se por 46,5% (673) dos indivíduos serem do sexo feminino. Assim como, 28,2% (408) das mães possuíam o ensino médio completo, 37,1% (537) das famílias apresentaram uma renda mensal entre 678,00 R\$ e 1355,99 R\$, aproximadamente 333,99 - 667,97 dólares na época (2013), 39,9% (447) dos cuidadores principais estavam acometidos com algum tipo de sofrimento mental, 66,2% (958) utilizou de maus tratos violentos na disciplina das crianças, 69,9% (1011) optaram por disciplina não violenta e 44,6% (646) disciplinou as crianças através de maus tratos não violentos. No total, das 1445 crianças, os dados de 1364 crianças foram estudados, devido à ocorrência de dados faltantes. Destas, 31,1% (450) das crianças apresentaram alterações comportamentais internalizantes e 29,4% (425) das crianças apresentaram alterações comportamentais externalizantes. Crianças que apresentaram os dois tipos de alterações comportamentais foram incluídas na análise (Achenbach, 2016)

### 3.2 Associação entre Fatores ambientais e desfechos

Primeiramente, foram feitas as análises de frequência para caracterizar a população estudada e a categorização das crianças com os desfechos investigados, ou seja, sintomas de alterações comportamentais internalizantes (CI) e de alterações comportamentais externalizantes (CE). Em seguida, testes de normalidade, para identificar se os dados eram bem explicados por um modelo de distribuição normal, foram aplicados nos dados de crianças com CI ou CE. Diante disso, foi observado que ambos os dados eram bem modelados por uma distribuição normal. Logo, poderia ser efetuado o Qui-quadrado de independência ( $\chi^2$ ). A relação de todos os fatores ambientais observados com os fenótipos estudados (CI e CE), tanto na infância quanto na adolescência, foram testados através do teste de  $\chi^2$  de independência (**Tabela 1**). A renda familiar apresentou associação significativa à presença de sintomas de alterações do comportamento externalizantes ( $p=1,0 \times 10^{-3}$ ) e internalizantes ( $p=1,6 \times 10^{-2}$ ). Também foi encontrada uma associação significativa



entre o tipo de disciplina aplicada como “Maus tratos violentos” para CI em crianças ( $p=8,2184 \times 10^{-7}$ ) e CE: ( $p=2,3104 \times 10^{-7}$ ), “Disciplina não violenta” para CI em crianças ( $p=1,106 \times 10^{-3}$ ) e CE ( $p=8,29 \times 10^{-4}$ ), “Maus tratos não violentos” para CI em crianças ( $p=1,3268 \times 10^{-13}$ ) e CE ( $p=1,0498 \times 10^{-23}$ ), sofrimento mental no cuidador para CI em crianças ( $3,9676 \times 10^{-16}$ ) e CE ( $p=4,4031 \times 10^{-9}$ ).

**Tabela 1.** Associação entre fatores socioambientais e sintomas de alterações de internalização ou externalização, na infância.

Descrição	n (%)	p valor (Teste $\chi^2$ )			
		Infância		Infância	
		CI*	n (%)	CE*	n (%)
<b>Sexo</b>	Feminino	$1,4 \times 10^{-7}$	1364 (94,3)	$8 \times 10^{-2}$	1364 (94,3)
<b>Escolaridade materna</b>	Não lê ou escreve		21 (1,5)		
	Primário incompleto		168 (11,6)		
	Até a 4ª série		127 (8,8)		
	Entre a 5ª e 8ª séries		365 (25,2)		
	Até 8ª série	$8 \times 10^{-2}$	1345 (93,0)	$2 \times 10^{-2}$	1345 (93,0)
	2º grau Incompleto		216 (14,6)		
	2º grau Completo		408 (28,2)		
	Superior Incompleto		15 (1,0)		
Superior Completo		7 (0,5)			
<b>Renda Mensal Familiar (R\$)</b>	< 300,00		63 (4,4)		
	300,00-677,99		304 (21,0)		
	678,00-1355,99	$4,0 \times 10^{-15}$	1085 (75,0)	$1,0 \times 10^{-3}$	1085 (75,0)
	1356,00-2711,99		537 (37,1)		
	$\geq 2712,00$		189 (13,1)		
<b>Escore SRQ-20</b>	Presente	$4,0 \times 10^{-15}$	1088 (75,2)	$4,4 \times 10^{-9}$	1071 (74,0)
<b>Maus tratos violentos</b>	Presente	$8,2 \times 10^{-7}$	1344 (92,9)	$2,3 \times 10^{-7}$	1344 (92,9)
<b>Disciplina não violenta</b>	Presente	$1,1 \times 10^{-3}$	1344 (92,9)	$8,3 \times 10^{-4}$	1344 (92,9)
<b>Maus tratos não violentos</b>	Presente	$1,3 \times 10^{-13}$	1344 (92,9)	$1,0 \times 10^{-23}$	1344 (92,9)

Dados coletados no ano de 2005. Abreviações, CI: comportamento internalizante. CE: comportamento externalizante. SRQ-20: Self Report Questionnaire (teste que avalia o sofrimento mental do cuidador). \*existe sobreposição entre os valores de n para DCI e DCE

### 3.3 Associação entre Desfechos e Citocinas

Os dados de citocina não foram bem descritos por um modelo de distribuição normal. Neste contexto, os dados categóricos de perfis imunofenótipos foram utilizados para uma análise de Qui-quadrado (**Tabela 2**). Diante disso, o perfil imunofenotípico dos indivíduos apresentou significância para alterações comportamentais externalizantes na infância ( $p=2,0 \times 10^{-2}$ ). Entretanto, não foi observada nenhuma outra associação entre os perfis e a presença de alterações do comportamento. Portanto, levantamos a hipótese de que a associação entre níveis de citocinas separadas e os sintomas poderiam ter uma associação melhor.

**Tabela 2.** Associação de imunofenótipos e sintomas de alterações de internalização ou externalização, na infância e adolescência.

Descrição	n (%)	p valor (Teste $\chi^2$ )		
		Infância		
		CI	CE	
Imunofenótipo	Pouco responsivo	194 (17,2)		
	Intermediário	129 (11,4)	$9 \times 10^{-2}$	$2 \times 10^{-2}$
	Responsivo	804 (71,3)		

Abreviações, CI: comportamento internalizante. CE: comportamento externalizante.

Em seguida, foram feitas análises com os dados separados de citocinas no sangue periférico dos indivíduos, através do Teste U de Mann-Whitney. Pois este teste permite comparar a variação de concentração das citocinas em indivíduos com caso, apesar da variância não uniforme dos dados (**Tabela 3**). Dessa forma, foi observada associação significativa na concentração de IL-10 para crianças com CI ( $p=4,7 \times 10^{-2}$ ) e CE ( $p=1,8 \times 10^{-2}$ ). Assim como, na concentração de IL-13 para crianças com CI ( $p=2,0 \times 10^{-2}$ ) e com CE ( $p=1,5 \times 10^{-2}$ ). Por fim, foi observado também valor significativo para a associação entre IFN- $\gamma$  e alterações comportamentais externalizantes ( $p=2 \times 10^{-2}$ ).

**Tabela 3.** Associação entre as concentrações de citocinas IFN- $\gamma$ , IL-5, IL-10 e IL-13 e sintomas de alterações de internalização ou externalização, na infância e adolescência.

Citocina	<u>p valor (Teste U de Mann-Whitney)</u>			
	Infância			
	CI		CE	
	Medianas (IQRs)*	p	Medianas (IQRs)*	P
<b>IFN-<math>\gamma</math></b>	281,25 (211,58 - 281,25)	1,6 x 10 <sup>-1</sup>	281,25 (144,31- 281,25)	<b>2 x 10<sup>-2</sup></b>
<b>IL-5</b>	54,09 (0,005 - 164,75)	1,7 x 10 <sup>-1</sup>	57,5 (0,005 - 150,56)	1,8 x 10 <sup>-1</sup>
<b>IL-10</b>	468,75 (366,66 - 468,75)	<b>4,7 x 10<sup>-2</sup></b>	468,87 (372,08 - 468,87)	<b>1,8 x 10<sup>-2</sup></b>
<b>IL-13</b>	346,76 (76,12 - 772,4)	<b>2 x 10<sup>-2</sup></b>	352,41 (30,43 - 810,96)	<b>1,5 x 10<sup>-2</sup></b>

Abreviações, CI: comportamento internalizante. CE: comportamento externalizante. \*para os dados de medianas e quartis foram levados em consideração apenas os casos

#### 4. DISCUSSÃO

A renda familiar durante a infância e adolescência é um fator descrito como fortemente relacionado ao desenvolvimento de alterações comportamentais em adultos em uma população dinamarquesa (Hakulinen, C., Mok, P.L.H., Horsdhal, H.T. *et al.* 2020). Além disso, outros fatores como, escolaridade materna, escores (SRQ-20) dos cuidadores principais e presença de maus tratos e violência, foram investigados como possíveis fatores socioambientais relevantes. Já havia sido demonstrado na coorte utilizada (SCAALA) que a violência intrafamiliar é um fator de risco para o desenvolvimento de asma em crianças (Bonfim, C. & Santos, D. & Barreto, M., 2015). Diante disso, ao considerar o fato de que o mesmo estudo demonstrou evidências de que alterações comportamentais internalizantes têm influência na ocorrência de sintomas de asma (Bonfim, C. & Santos, D. & Barreto, M., 2015). É possível que traumas durante a infância podem estar associados ao desenvolvimento de sintomas de alterações comportamentais (Peters, T. A. *et al.* 2019), é plausível que haja uma relação entre a presença de maus tratos e o desenvolvimento de sintomas de alterações comportamentais. De acordo com os resultados das análises, o tipo de disciplina parece ter influência no desenvolvimento de alterações comportamentais.

Não foi encontrada associação entre sintomas de internalização na infância e escolaridade materna ( $p = 8 \times 10^{-2}$ ) (Tabela 1). Entretanto, houve relação entre sintomas de externalização na infância e a escolaridade materna ( $p=1,9 \times 10^{-2}$ ).

Todos os valores de  $p$  foram significativos para os três tipos de disciplina; disciplina não violenta, maus-tratos violentos e maus-tratos não violentos, quando relacionados aos sintomas de alterações comportamentais no começo da vida. Dessa forma, podemos inferir que há evidências para a associação desses fatores no desenvolvimento de sintomas comportamentais de internalização durante a infância. Outros dois fatores com resultado significativo foram, a renda familiar ( $p= 0,016$ , para CI) e ( $p = 1,0 \times 10^{-3}$  para CE). Assim como, o resultado do SRQ-20 do cuidador principal para CI ( $3,9676 \times 10^{-16}$ ) e CE ( $p=4,4031 \times 10^{-9}$ ) em crianças. Estes resultados corroboram aqueles encontrados na literatura para outras populações (Hakulinen, C., Mok, P.L.H., Horsdjal, H.T. *et al.* 2020; Keijsers, R *et al.* 2021).

Quanto aos níveis de citocinas, primeiramente foi testada associação com os 3 grupos de imunofenótipos (**Tabela 2**). Esta análise, sugeriu que os perfis imunofenotípicos estão relacionados apenas com sintomas externalizantes em crianças ( $p=2 \times 10^{-2}$ ). Entretanto, o Teste U de Mann-Whitney com as citocinas individualmente apresentou resultados melhores (**Tabela 3**). Isto sugere que a utilização destes perfis imunofenótipos como biomarcadores, pode não ser ideal, neste contexto. Diante disso, foi identificada uma associação significativa entre as concentrações de IL-10 e IL-13 e a ocorrência de CI ou CE em crianças. Por fim, IFN- $\gamma$  associado somente a CE em crianças.

A IL-13 ter sido associada a ambos os tipos de alterações comportamentais é especialmente interessante, uma vez que esta citocina normalmente está associada a resposta imunológica nas vias aéreas (Minty, A. *et al.* 1993). Estudos com esta mesma coorte (SCAALA) vem demonstrando que há uma associação entre asma e alterações comportamentais internalizantes. Entretanto, essa associação não é mediada por mecanismos imunológicos e alérgicos (Bonfim, C. *et al.*, 2015). Diante disso, é importante destacar que a IL-13 está associada a quadros de asma (Minty, A. *et al.* 1993). Apesar disso, estudos com ela coorte trabalhada neste estudo demonstraram que o nível de IL-13 nestas crianças não foi associado ao quadro de sintomas de asma (Machado, T. M. B., 2008). Dessa forma, a IL-13 pode ter potencial como biomarcador de sintomas de transtornos mentais, porém sua eficácia, principalmente diante de quadros de asma deve ser testada. Logo, faz-se necessário novos estudos que se proponham a avaliar a eficácia da IL-13 como um possível biomarcador.

IL-10 já vem sendo estudada devido a sua possível relação com alterações comportamentais (Voorhees, J. *et al*, 2013; Silva, C. *et al*, 2017; Zhou, J. *et al*, 2022). Apesar disso, os resultados deste estudo não corroboram os dados na literatura de que a IL-10 não possui nenhuma associação a alterações comportamentais internalizantes (Silva, C. *et al*, 2017). A IL-10 possui uma interação com a IL-6 que possivelmente pode ter papel importante no surgimento de sintomas de transtornos mentais (Voorhees, J. *et al*, 2013). Por essa razão, estudos futuros devem avaliar qual o papel da interação de ambas as citocinas e qual o potencial como biomarcadores

A possibilidade de utilizar citocinas como biomarcadores é especialmente importante para o Brasil devido ao SUS. Uma vez que o uso de citocinas no sangue periférico pode ser uma metodologia barata para auxiliar diagnósticos de alterações comportamentais, aumentando sua robustez. Devido a isso, o SUS pode se tornar o pioneiro em projetos sociais que buscam melhorar a saúde mental da população, através de sinais médicos dando suporte aos diagnósticos baseado em sintomas. Populações de países pobres ou em desenvolvimento tendem a negligenciar a saúde mental dos jovens (Kieling, C. *et al*, 2011), aumentando a exposição dessa população a fatores de risco. Por essa razão, estudar o papel dos fatores sociodemográficos associados ao desenvolvimento de sintomas sugestivos de transtornos mentais são importantes para a saúde pública do Brasil. Os resultados deste estudo ajudam a elucidar o papel de fatores sociodemográficos específicos no desenvolvimento de sintomas relacionados a alterações comportamentais em uma população miscigenada, como é o caso da coorte investigada.

É de interesse das pesquisas na área, investigar se os resultados deste estudo também são válidos para adolescentes. Neste caso, há o desafio de avaliar os sintomas sugestivos de transtornos mentais a partir de diferentes informantes (Achenbach, T. M., McConaughy, S. H., & Howell, C. T. 1987). Além disso, os fatores sociodemográficos associados à família talvez sejam mais importantes na infância devido ao fato de a esfera familiar ser a mais importante para uma criança, enquanto, na adolescência, há um período de rompimento dessa relação de exclusividade com a esfera familiar. Logo, fatores associados a outras esferas sociais, como a relação entre pares, podem ser os melhores preditores dos sintomas na adolescência (Kaess, M., 2018).

Portanto, a neuropsiquiatria ainda precisa desenvolver sinais médicos para auxiliar no diagnóstico de pessoas com alterações comportamentais. Neste contexto, a associação de biomarcadores e sintomas podem formular diagnósticos mais robustos no futuro. Dessa forma, a IL-10, IL-13 e IFN- $\gamma$  são citocinas candidatas a biomarcadores. Além disso, é necessário identificar os fatores ambientais relevantes em múltiplas populações para acompanhar o avanço destes transtornos mentais. Portanto, este estudo observou que fatores ambientais como tipo de disciplina, renda familiar mensal e sofrimento mental do cuidador são fatores que demonstraram estar associados a alterações comportamentais na população miscigenada de Salvador, Brasil.

## 5. AGRADECIMENTOS

Nós agradecemos ao grupo *The Social Changes, Asthma and Allergy in Latin America* (SCAALA), pela coleta dos dados usados neste estudo. Assim como agradecemos à FAPESB e ao CNPq pelas bolsas de pesquisa.

## 6. CONFLITO DE INTERESSES

Os autores declaram não ter conflito de interesse de qualquer natureza.

## 7. REFERÊNCIAS

1. Kieling C, Baker-Henningham H, Belfer M, Conti G, Ertem I, Omigbodun O, Rohde LA, Srinath S, Ulkuer N, Rahman A. Child and adolescent mental health worldwide: evidence for action. *Lancet*. 2011 Oct 22;378(9801):1515-25. doi: 10.1016/S0140-6736(11)60827-1. Epub 2011 Oct 16. PMID: 22008427.
2. Organização Mundial da Saúde. (2022). Mental Health. Retirado de [https://www.who.int/health-topics/mental-health#tab=tab\\_1](https://www.who.int/health-topics/mental-health#tab=tab_1)
3. Jeon, Hong Jin. (2016). Depression and suicide. *J Korean Med Assoc*. 54. 370-375. 10.5124/jkma.2011.54.4.370.
4. Workman, C. G., & Prior, M. (1997). Depression and suicide in young children. *Issues in comprehensive pediatric nursing*, 20(2), 125–132. <https://doi.org/10.3109/01460869709026883>

5. La Maison, C., Munhoz, T. N., Santos, I. S., Anselmi, L., Barros, F. C., & Matijasevich, A. (2018). Prevalence and risk factors of psychiatric disorders in early adolescence: 2004 Pelotas (Brazil) birth cohort. *Social psychiatry and psychiatric epidemiology*, 53(7), 685–697. <https://doi.org/10.1007/s00127-018-1516-z>
6. Hoagwood, Kimberly & Burns, Barbara & Kiser, Laurel & Ringeisen, Heather & Schoenwald, Sonja. (2001). Evidence-Based Practice in Child and Adolescent Mental Health Services. *Psychiatric services (Washington, D.C.)*. 52. 1179-89. [10.1176/appi.ps.52.9.1179](https://doi.org/10.1176/appi.ps.52.9.1179).
7. Sadock, B. J., Sadock, V. A., Ruiz, P., & Kaplan, H. I. (2017). *Kaplan and Sadock's comprehensive textbook of psychiatry* (10th ed.). Wolters Kluwer.
8. AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION - APA. Manual diagnóstico e estatístico de transtornos mentais: DSM-5. Porto Alegre: Artmed, 2014.
9. Wells, R. H. C., Bay-Nielsen, H., Braun, R., Israel, R. A., Laurenti, R., Maguin, P., & Taylor, E. (2011). CID-10: classificação estatística internacional de doenças e problemas relacionados à saúde. São Paulo: EDUSP.
10. Merikangas, Kathleen & Nakamura, Erin & Kessler, Ronald. (2009). Epidemiology of mental disorders in children and adolescents. *Dialogues in Clinical NeuroSciences*, 11(1), 7-20. *Dialogues in clinical neuroscience*. 11. 7-20.
11. MINTY, A. et al. Interleukin-13 is a new human lymphokine regulating inflammatory and immune responses. *Nature*, v. 362, n. 6417, p. 248–250, mar. 1993.
12. ACHENBACH, T. M. Manual for the child behavior checklist/ 4-18 and 1991 profile. Burlington, VT: University of Vermont Department of Psychiatry, 1991.
13. Petty, C. R., Rosenbaum, J. F., Hirshfeld-Becker, D. R., Henin, A., Hubley, S., LaCasse, S., Faraone, S. V., & Biederman, J. (2008). The child behavior checklist broad-band scales predict subsequent psychopathology: A 5-year follow-up. *Journal of anxiety disorders*, 22(3), 532–539. <https://doi.org/10.1016/j.janxdis.2007.04.003>
14. Achenbach, T. M., Ivanova, M. Y., Rescorla, L. A., Turner, L. V., & Althoff, R. R. (2016). Internalizing/Externalizing Problems: Review and Recommendations for Clinical and Research Applications. *Journal of the American Academy of Child*

and *Adolescent Psychiatry*, 55(8), 647–656.  
<https://doi.org/10.1016/j.jaac.2016.05.012>

15. Lippard, Elizabeth. (2019). The Devastating Clinical Consequences of Child Abuse and Neglect: Increased Disease Vulnerability and Poor Treatment Response in Mood Disorders. *American Journal of Psychiatry*. 177. [10.1176/appi.ajp.2019.19010020](https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2019.19010020).
16. Kotov, R., Krueger, R. F., Watson, D., Achenbach, T. M., Althoff, R. R., Bagby, R. M., Brown, T. A., Carpenter, W. T., Caspi, A., Clark, L. A., Eaton, N. R., Forbes, M. K., Forbush, K. T., Goldberg, D., Hasin, D., Hyman, S. E., Ivanova, M. Y., Lynam, D. R., Markon, K., Miller, J. D., ... Zimmerman, M. (2017). The Hierarchical Taxonomy of Psychopathology (HiTOP): A dimensional alternative to traditional nosologies. *Journal of abnormal psychology*, 126(4), 454–477. <https://doi.org/10.1037/abn0000258>
17. Gauld, C., Giroux, É., & Micoulaud-Franchi, J. A. (2022). Introduction à la taxonomie hiérarchique de la psychopathologie [Introduction to the hierarchical taxonomy of psychopathology]. *L'Encephale*, 48(1), 92–101. <https://doi.org/10.1016/j.encep.2021.05.008>
18. Watson, D. (2005). Rethinking the mood and anxiety disorders: A quantitative hierarchical model for DSM-V. *Journal of Abnormal Psychology*, 114(4), 522–536. <https://doi.org/10.1037/0021-843X.114.4.522>
19. Achenbach, Thomas. (2021). Hierarchical dimensional models of psychopathology: yes, but.... *World Psychiatry*. 20. 64-65. [10.1002/wps.20810](https://doi.org/10.1002/wps.20810).
20. Pesenti-Gritti, P., Spatola, C.A.M., Fagnani, C. et al. The co-occurrence between internalizing and externalizing behaviors. *Eur Child Adolesc Psychiatry* 17, 82–92 (2008). <https://doi.org/10.1007/s00787-007-0639-7>
21. BORDIN, I. A.; MARI, J. J.; CAEIRO, M. F. Validação da versão brasileira do “Child Behavior Checklist”(CBCL)(Inventário de Comportamentos da Infância e Adolescência): 109 dados preliminares. *Rev ABPAPAL*, p. 55–66, 1995
22. BORDIN, I. A et al. Child Behavior Checklist (CBCL), Youth Self-Report (YSR) and Teacher’s Report Form(TRF): an overview of the development of the original and Brazilian versions. *Cadernos de saúde pública*, v. 29, n. 1, p. 13–28, 2013.



23. Achenbach, T.M., & Rescorla, L.A., (2001) *Manual for the ASEBA School-Age Forms & Profiles*. Burlington, VT: University of Vermont, Research Center for Children, Youth & Families
24. Rocha, T. B. M., Zeni, C. P., Caetano, S. C., & Kieling, C. (2013). Mood disorders in childhood and adolescence. *Revista Brasileira de Psiquiatria*, 35(suppl 1), S22–S31. doi:10.1590/1516-4446-2013-s106
25. Wright, J.D.. (2015). *International Encyclopedia of the Social & Behavioral Sciences: Second Edition*.
26. Craske, Michelle & Rauch, Scott & Ursano, Robert & Prenoveau, Jason & Pine, Daniel & Zinbarg, Richard. (2009). What Is an Anxiety Disorder?. *Depression and anxiety*. 26. 1066-85. 10.1002/da.20633.
27. Walton, K.E., & Pavlos, S.R. (2015). *Personality Theory and Psychopathology*.
28. McLaughlin, K.A., Hilt, L.M. & Nolen-Hoeksema, S. Racial/Ethnic Differences in Internalizing and Externalizing Symptoms in Adolescents. *J Abnorm Child Psychol* 35, 801–816 (2007). <https://doi.org/10.1007/s10802-007-9128-1>
29. Isabelita Guiao & Elaine Adams Thompson (2004) ETHNICITY AND PROBLEM BEHAVIORS AMONG ADOLESCENT FEMALES IN THE UNITED STATES, *Health Care for Women International*, 25:4, 296-310, DOI: 10.1080/07399330490278330
30. Barker, E., Cecil, C., Walton, E., Houtepen, L., O'Connor, T., Danese, A., . . . Roberts, S. (2018). Inflammation-related epigenetic risk and child and adolescent mental health: A prospective study from pregnancy to middle adolescence. *Development and Psychopathology*, 30(3), 1145-1156. doi:10.1017/S0954579418000330
31. Twenge, J. M., & Nolen-Hoeksema, S. (2002). Age, gender, race, socioeconomic status, and birth cohort difference on the children's depression inventory: A meta-analysis. *Journal of Abnormal Psychology*, 111(4), 578–588. <https://doi.org/10.1037/0021-843X.111.4.578>
32. IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. PCERP - Pesquisa das Características Étnico-Raciais da População. Rio de Janeiro: IBGE, 2008.

33. Slade, T. The descriptive epidemiology of internalizing and externalizing psychiatric dimensions. *Soc Psychiat Epidemiol* 42, 554–560 (2007). <https://doi.org/10.1007/s00127-007-0200-5>
34. Wang, Qingzhong & Timberlake, Matthew & Prall, Kevin & Dwivedi, Yogesh. (2017). The recent progress in animal models of depression. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*. 77. 10.1016/j.pnpbp.2017.04.008.
35. Zwicker, A., Denovan-Wright, E., & Uher, R. (2018). Gene–environment interplay in the etiology of psychosis. *Psychological Medicine*, 48(12), 1925–1936. doi:10.1017/S003329171700383X
36. Beeson, C.M.L., Brittain, H. & Vaillancourt, T. The Temporal Precedence of Peer Rejection, Rejection Sensitivity, Depression, and Aggression Across Adolescence. *Child Psychiatry Hum Dev* 51, 781–791 (2020). <https://doi.org/10.1007/s10578-020-01008-2>
37. Kaess, M. Bullying: peer-to-peer maltreatment with severe consequences for child and adolescent mental health. *Eur Child Adolesc Psychiatry* 27, 945–947 (2018). <https://doi.org/10.1007/s00787-018-1201-5>
38. Laura V. Scaramella, Rand D. Conger & Ronald L. Simons (1999) Parental Protective Influences and Gender-Specific Increases in Adolescent Internalizing and Externalizing Problems, *Journal of Research on Adolescence*, 9:2, 111-141, DOI: 10.1207/s15327795jra0902\_1
39. Ryan, S.M., Ollendick, T.H. The Interaction Between Child Behavioral Inhibition and Parenting Behaviors: Effects on Internalizing and Externalizing Symptomology. *Clin Child Fam Psychol Rev* 21, 320–339 (2018). <https://doi.org/10.1007/s10567-018-0254-9>
40. Serbin, L., Kingdon, D., Ruttle, P., & Stack, D. (2015). The impact of children's internalizing and externalizing problems on parenting: Transactional processes and reciprocal change over time. *Development and Psychopathology*, 27(4pt1), 969-986. doi:10.1017/S0954579415000632
41. Stone, L.L., Mares, S.H.W., Otten, R. et al. The Co-Development of Parenting Stress and Childhood Internalizing and Externalizing Problems. *J Psychopathol Behav Assess* 38, 76–86 (2016). <https://doi.org/10.1007/s10862-015-9500-3>

42. Moffitt, Terrie & Caspi, Avshalom & Taylor, Alan & Arseneault, Louise. (2002). Influence of Adult Domestic Violence on Children's Internalizing and Externalizing Problems: An Environmentally Informative Twin Study. *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry*. 41. 1095-103. 10.1097/00004583-200209000-00010.
43. Valk, Jolande & Oord, Edwin & Verhulst, Frank & Boomsma, Dorret. (2003). Genetic and Environmental Contributions to Stability and Change in Children's Internalizing and Externalizing Problems. *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry*. 42. 1212-20. 10.1097/00004583-200310000-00012.
44. Slopen, Natalie & Kubzansky, Laura & Koenen, Karestan. (2013). Internalizing and externalizing behaviors predict elevated inflammatory markers in childhood. *Psychoneuroendocrinology*. 38. 10.1016/j.psyneuen.2013.07.012.
45. Barker, E., Cecil, C., Walton, E., Houtepen, L., O'Connor, T., Danese, A., . . . Roberts, S. (2018). Inflammation-related epigenetic risk and child and adolescent mental health: A prospective study from pregnancy to middle adolescence. *Development and Psychopathology*, 30(3), 1145-1156. doi:10.1017/S0954579418000330
46. Nicole Lichtblau, Frank M. Schmidt, Robert Schumann, Kenneth C. Kirkby & Hubertus Himmerich (2013) Cytokines as biomarkers in depressive disorder: Current standing and prospects, *International Review of Psychiatry*, 25:5, 592-603, DOI: 10.3109/09540261.2013.813442
47. Maydych V. (2019). The Interplay Between Stress, Inflammation, and Emotional Attention: Relevance for Depression. *Frontiers in neuroscience*, 13, 384. <https://doi.org/10.3389/fnins.2019.00384>
48. Mevorach, T., Taler, M., Dar, S. et al. The relationship between the plasma proinflammatory cytokine levels of depressed/anxious children and their parents. *Sci Rep* 11, 11798 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-90971-4>
49. Renner, Vanessa & Petrowski, Katja. (2021). Stress-induced pro- and anti-inflammatory cytokine concentrations in PTSD and MD patients. *Psychoneuroendocrinology*. 131. 105513. 10.1016/j.psyneuen.2021.105513.

50. Lee, Hojun & Song, Minjae & Lee, Jong-ha & Kim, Jung-Bum & Lee, Moon-Soo. (2020). Prospective study on cytokine levels in medication-naïve adolescents with first-episode major depressive disorder. *Journal of Affective Disorders*. 266. 10.1016/j.jad.2020.01.125.
51. Jansen, J. & Fernstrand, Amanda & Loo, A.J.A.E. & Garssen, J. & Verster, J.C.. (2015). P.1.f.005 Cytokines and mood in healthy young adults. *European Neuropsychopharmacology*. 25. S227-S228. 10.1016/S0924-977X(15)30244-3.
52. Katíla, H., Rimón, R., Cantell, K., Appelberg, B., Nikkilä, H. (1991). Interferon Production in Acute Psychiatric Disorders. In: Kurstak, E. (eds) *Psychiatry and Biological Factors*. Springer, Boston, MA. [https://doi.org/10.1007/978-1-4684-5811-4\\_17](https://doi.org/10.1007/978-1-4684-5811-4_17)
53. José F. Pérez-Barrientos (2022) Implications of chronic stress and inflammation in major depressive disorder. *Medicina Universitaria*. 24. Issue 3. 146-147
54. Ameele, Seline & Fuchs, Dietmar & Coppens, Violette & Boer, Peter & Timmers, Maarten & Sabbe, Bernard & Morrens, Manuel. (2018). Markers of Inflammation and Monoamine Metabolism Indicate Accelerated Aging in Bipolar Disorder. *Frontiers in Psychiatry*. 9. 10.3389/fpsyt.2018.00250.
55. Silva, Cristiano & Costa, Marianna & Kapczinski, Flavio & Aguiar, Bianca & Salum, Giovanni & Manfro, Gisele. (2017). Inflammation and internalizing disorders in adolescents. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry*. 77. 10.1016/j.pnpbp.2017.03.023.
56. Beusenberg, M, Orley, John H & World Health Organization. Division of Mental Health. (1994). *A User's guide to the self-reporting questionnaire (SRQ / compiled by M. Beusenberg and J. Orley. World Health Organization.* <https://apps.who.int/iris/handle/10665/61113>
57. Voorhees, Jeffery & Tarr, Andrew & Wohleb, Eric & Godbout, Jonathan & Mo, Xiaokui & Sheridan, John & Eubank, Timothy & Marsh, Clay. (2013). Prolonged Restraint Stress Increases IL-6, Reduces IL-10, and Causes Persistent Depressive-Like Behavior That Is Reversed by Recombinant IL-10. *PLoS one*. 8. e58488. 10.1371/journal.pone.0058488.
58. Zhou, Jixing & Zhang, Fu & Teng, Yuzhu & Ru, Xue & Li, Peixuan & Wang, Jianqing & Yan, Shuangqin & Zhu, Peng & Tao, Fangbiao & Huang, Kun.

- (2022). Sex-specific association between placental inflammatory cytokine mRNA expression and preschoolers' behavioral development: The Ma'anshan birth cohort study. *Brain, Behavior, and Immunity*. 104. 10.1016/j.bbi.2022.05.017.
59. Bonfim, Camila & Santos, Darci & Barreto, Mauricio. (2015). The association of intrafamilial violence against children with symptoms of atopic and non-atopic asthma: A cross-sectional study in Salvador, Brazil. *Child Abuse & Neglect*. 65. 10.1016/j.chiabu.2015.05.021.
60. Minty, A., Chalon, P., Derocq, JM. et al. Interleukin-13 is a new human lymphokine regulating inflammatory and immune responses. *Nature* 362, 248–250 (1993). <https://doi.org/10.1038/362248a0>
61. Hakulinen, C., Mok, P.L.H., Horsdal, H.T. et al. Parental income as a marker for socioeconomic position during childhood and later risk of developing a secondary care-diagnosed mental disorder examined across the full diagnostic spectrum: a national cohort study. *BMC Med* 18, 323 (2020). <https://doi.org/10.1186/s12916-020-01794-5>
62. Keijser R, Åslund C, Nilsson KW, Olofsdotter S. Gene-environment interaction: Oxytocin receptor (OXTR) polymorphisms and parenting style as potential predictors for depressive symptoms. *Psychiatry Res*. 2021 Sep;303:114057. doi: 10.1016/j.psychres.2021.114057. Epub 2021 Jun 8. PMID: 34144447.
63. IBM Corp. Released 2020. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 27.0. Armonk, NY: IBM Corp
64. Pearson, K., 1900. X. On the criterion that a given system of deviations from the probable in the case of a correlated system of variables is such that it can be reasonably supposed to have arisen from random sampling. *The London, Edinburgh, and Dublin Philosophical Magazine and Journal of Science*, 50(302), pp.157–175. Available at: <https://doi.org/10.1080/14786440009463897>.
65. Mann, H.B. and Whitney, D.R. (1947) On a Test of Whether One of Two Random Variables Is Stochastically Larger than the Other. *Annals of Mathematical Statistics*, 18, 50-60. <http://dx.doi.org/10.1214/aoms/1177730491>
66. Wilcoxon, F. (1945). Individual Comparisons by Ranking Methods. *Biometrics Bulletin*, 1(6), 80–83. <https://doi.org/10.2307/3001968>

67. Figueiredo, Camila & Amorim, Leila & Alcantara-Neves, Neuza & Alvim, Sheila & Cooper, Philip & Rodrigues, Laura & Barreto, Mauricio. (2013). Environmental conditions, immunologic phenotypes, atopy, and asthma: new evidence of how hygiene hypothesis operates in Latin America. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 131. 10.1016/j.jaci.2013.01.016.
68. Barreto, M.L., Cunha, S.S., Alcântara-Neves, N. et al. Risk factors and immunological pathways for asthma and other allergic diseases in children: background and methodology of a longitudinal study in a large urban center in Northeastern Brazil (Salvador-SCAALA study). *BMC Pulm Med* 6, 15 (2006)

## 4. DISCUSSÃO GERAL

Neste estudo, foram obtidos resultados significativos na busca por biomarcadores de alterações comportamentais. Foram avaliados fatores ambientais que ainda estão em debate na literatura quanto à sua influência no desenvolvimento de alterações comportamentais. Entre as citocinas investigadas, foram observadas que algumas das citocinas investigadas estão associadas à presença de sintomas de alterações comportamentais. Logo, são candidatas a biomarcadores de alterações comportamentais, com suporte na literatura (Jansen, J. *et al*, 2015; Lichtblau, N. *et al*, 2013; Maydych, M., 2019; Lee, Hojun *et al.*, 2020). Assim como, citocinas previamente associadas a asma e alergias apresentaram resultados interessantes como candidatas a biomarcadores. Pois, na literatura sua função está majoritariamente associada a resposta imunológica no sistema respiratório (MINTY, A. *et al.* 1993).

### 4.1 Dados retirados das análises

Este estudo também trabalhou com dados coletados na adolescência dos indivíduos. Os dados da adolescência (N=1021) não apresentaram resultados relevantes, provavelmente devido a diversas questões metodológicas. Por essa razão, foram excluídos do artigo. Os resultados dos testes de Qui-quadrado entre fatores sociodemográficos e o fenótipo do indivíduo durante a adolescência, sugerem que não há relação entre qualquer um dos fatores ambientais investigados e a presença de sintomas de alterações comportamentais internalizantes. Este resultado é diferente do descrito para populações caucasianas (Hakulinen, C., Mok, P.L.H., Horsdza, H.T. *et al.* 2020; Keijser, R *et al.* 2021; Peters, T. A. *et al*, 2019).

Ambas as ferramentas utilizadas para avaliar alterações comportamentais usadas (CBCL, YSR) foram validadas na população brasileira (Bordin, I. A. *et al* 1995; Bonfim, C.B. *et al.*, 2011 ; Rocha, M.M., 2012 ; Iacoponi E, Mari JJ., 1998), é possível inferir que há algum fator interferindo para que haja essa discrepância, esse fator pode estar relacionado a uma limitação do estudo que se refere aos dados sociais. É possível que durante a adolescência outros fatores ambientais se tornem mais associados ao desenvolvimento de alterações comportamentais do que os

investigados. Por exemplo, durante a adolescência o papel das relações entre pares pode ser mais importante para prever o surgimento de alterações (Kaess, M., 2018). Além disso, a distância entre as datas de coleta dos parâmetros analisados, já que alguns fatores ambientais, como informações sobre pavimentação, foram coletados em 2005, enquanto outros, como CTSPC, foram coletados em 2006 e até em 2013, como Escolaridade materna, Renda familiar e SRQ-20. Diante disso, recomendamos que novos estudos sejam feitos com coletas mais frequentes dos dados ambientais.

#### 4.2 Citocinas com potencial para Biomarcador

As citocinas avaliadas neste estudo demonstraram importantes resultados quanto a sua possível utilização no futuro. IL-5 demonstrou ser uma citocina mais relevante para estudos de asma do que alterações comportamentais, corroborando aquilo que já foi registrado na literatura (Jansen, J. *et al*, 2015). Entretanto, o mesmo não pode ser dito a respeito da IL-13 que apesar de ser mais associada a reações alérgicas na via aérea (Minty, A. *et al*, 1993). No presente estudo a IL-13 demonstrou associação à CI e CE em crianças. Na literatura a IL-13 foi registrada como associada a alguns transtornos mentais, como a depressão aguda (Mao, R. *et al*, 2018). Outra citocina que demonstrou bom potencial como biomarcador foi a IL-10 que também demonstrou associação significativa aos dois tipos de alterações comportamentais. Estes resultados demonstram que algumas citocinas (IFN- $\gamma$ , IL-10, IL-13) podem ter potencial como biomarcadores para auxiliar o diagnóstico de alterações de comportamento. Entretanto, novas pesquisas devem focar em avaliar sua eficácia especificamente em crianças e adolescentes.

Existem outras citocinas com potencial como biomarcador na literatura. Entre estas estão a Interleucina-1b e Interleucina-6. A Interleucina-1b (IL-1B) é uma citocina com atividade pró-inflamatória, expressa no cérebro, principalmente no hipocampo (Tsai, Shih-Jen., 2017). Região responsável pelo processamento de memórias e humor (Moyes, C. D.Schulte, P. M., 2010. Já a Interleucina-6 possui atividade pró-inflamatória e anti-inflamatória. Sendo associada a níveis significativos de estresse (Paolucci, E. *et al*, 2018). A IL-6 é uma citocina que já demonstrou ser útil como biomarcador, inclusive em estudos que observaram o papel de exercícios físicos em moderação no tratamento de depressão. Entretanto, a intensidade da atividade física



deve ser moderada, tendo a IL-6 como citocina indicativa de excesso na intensidade da atividade física, gerando o efeito oposto do desejado, ou seja, aumentando o estresse (Paolucci, E. *et al*, 2018). Além disso, é sabido que IL-6 tem interações normalmente antagônicas a outra citocina, a IL-10. Sendo observado que a IL-10 reduz a produção de IL-6 na micróglia (Jonathan R.R H. *et al*, 2000). Além da proporção IL-6/IL-10 ser inversamente proporcional à persistência de sintomas de humor deprimido (Voorhees, J. *et al*, 2013). Portanto, fica clara a importância da IL-6 como biomarcador a ser prospectado para a avaliação de sintomas de transtornos mentais. Assim como, pode ser prospectada como mediador de tratamentos alternativos a transtornos mentais como depressão (Paolucci, Em. *et al*, 2018). Portanto, alterações nos níveis de citocinas também vem apresentando co-ocorrência com transtornos mentais, se tornando assim, possíveis biomarcadores a serem prospectados (Lichtblau, N. *et al*, 2013; Paolucci, E. *et al*, 2018). Sendo de grande interesse no desenvolvimento de novas técnicas de diagnóstico e prevenção.

## 5. CONCLUSÕES GERAIS

Foi testada a associação de fatores ambientais citados na literatura com alterações comportamentais em crianças e adolescentes. Observou-se que o tipo de disciplina, renda familiar e sofrimento mental do cuidador são os fatores associados às alterações na infância. Apesar de ter sido encontrada associação entre escolaridade materna e DCE em crianças, estudos futuros que desejem trabalhar com esse fator devem se atentar a questões metodológicas, assim como recomenda-se que se utilize outros fatores em conjunto. Já o tipo de disciplina e o sofrimento mental do cuidador principal demonstraram ser bons fatores associados a alterações comportamentais.

Dentre as 4 citocinas investigadas, 3 apresentaram associação significativa com alterações comportamentais na infância. Este resultado reforça o potencial da IL-13 como biomarcador para alterações comportamentais. Além disso, existem outras citocinas que têm potencial para serem testadas como biomarcadores que devem ser investigados em pesquisas futuras.

A neuropsiquiatria ainda precisa desenvolver sinais médicos para auxiliar no diagnóstico de pessoas com alterações comportamentais, assim como revisar técnicas já descritas. Neste contexto, a associação de biomarcadores e sintomas podem formular diagnósticos mais robustos no futuro. Dessa forma, a IL-10, IL-13 e IFN- $\gamma$  são citocinas candidatas a biomarcadores. Além disso, é necessário identificar os fatores ambientais relevantes em múltiplas populações para acompanhar o avanço destes transtornos mentais. Portanto, este estudo observou que fatores ambientais como tipo de disciplina, renda familiar mensal e sofrimento mental do cuidador são fatores que demonstraram estar associados a alterações comportamentais na população de Salvador, Brasil.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ACHENBACH, T. M. et al. Internalizing/Externalizing Problems: Review and Recommendations for Clinical and Research Applications. *Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry*, v. 55, n. 8, p. 647–656, ago. 2016.
2. ACHENBACH, T. M. Hierarchical dimensional models of psychopathology: yes, but... *World Psychiatry*, v. 20, n. 1, p. 64–65, 12 jan. 2021.
3. ACHENBACH, T. M. **Manual for the child behavior checklist**. Estados Unidos: University Of Vermont, 1992
4. ACHENBACH, T. M.; DUMENCI, L. Advances in empirically based assessment: Revised cross-informant syndromes and new DSM-oriented scales for the CBCL, YSR, and TRF: Comment on Lengua, Sadowski, Friedrich, and Fisher (2001). *Journal of Consulting and Clinical Psychology*, v. 69, n. 4, p. 699–702, 2001.
5. AMERICAN. **DSM-5**. [s.l.] Artmed Editora, 2014
6. BARKER, E. D. et al. Inflammation-related epigenetic risk and child and adolescent mental health: A prospective study from pregnancy to middle adolescence. *Development and Psychopathology*, v. 30, n. 3, p. 1145–1156, ago. 2018.
7. BARKER, E. D. et al. Inflammation-related epigenetic risk and child and adolescent mental health: A prospective study from pregnancy to middle adolescence. *Development and Psychopathology*, v. 30, n. 3, p. 1145–1156, ago. 2018.
8. BECHTER, K. et al. Cerebrospinal fluid analysis in affective and schizophrenic spectrum disorders: Identification of subgroups with immune responses and blood–CSF barrier dysfunction. *Journal of Psychiatric Research*, v. 44, n. 5, p. 321–330, abr. 2010.
9. BEESON, C. M. L.; BRITAIN, H.; VAILLANCOURT, T. The Temporal Precedence of Peer Rejection, Rejection Sensitivity, Depression, and

- Aggression Across Adolescence. **Child Psychiatry & Human Development**, v. 51, n. 5, p. 781–791, 28 maio de 2020.
10. BELEM DA SILVA, C. T. et al. Inflammation and internalizing disorders in adolescents. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 77, p. 133–137, jul. 2017.
  11. BENROS, M. E. et al. Autoimmune Diseases and Severe Infections as Risk Factors for Mood Disorders. **JAMA Psychiatry**, v. 70, n. 8, p. 812, 1 ago. 2013.
  12. BORDIN, I. A et al. Child Behavior Checklist (CBCL), Youth Self-Report (YSR) and Teacher's Report Form (TRF): an overview of the development of the original and Brazilian versions. **Cadernos de saúde pública**, v. 29, n. 1, p. 13–28, 2013.
  13. BORDIN, I. A.; MARI, J. J.; CAEIRO, M. F. Validação da versão brasileira do "Child Behavior Checklist" (CBCL) (**Inventário de Comportamentos da Infância e Adolescência**): **109 dados preliminares**. Rev ABPAPAL, p. 55–66, 1995
  14. BRESTAN, E. V.; EYBERG, S. M. Effective psychosocial treatments of conduct-disordered children and adolescents: 29 years, 82 studies, and 5,272 kids. **Journal of Clinical Child Psychology**, v. 27, n. 2, p. 180–189, jun. 1998.
  15. CAIRNS, R. B.; CAIRNS, B. D. The Natural History and Developmental Functions of Aggression. **Handbook of Developmental Psychopathology**, p. 403–429, 2000
  16. CISTIA, D. C., **Fundamentos de Imunologia e Microbiologia**, 1 edição; SESES, Rio de Janeiro, 2015
  17. CRASKE, M. G. et al. What is an anxiety disorder? **Depression and Anxiety**, v. 26, n. 12, p. 1066–1085, dez. 2009.
  18. DANTZER, R. et al. From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain. **Nature reviews. Neuroscience**, v. 9, n. 1, p. 46–56, 2008.
  19. DIAMOND, B. et al. Losing your nerves? Maybe it's the antibodies. **Nature Reviews Immunology**, v. 9, n. 6, p. 449–456, jun. 2009.

20. GAULD, C.; GIROUX, É.; MICOULAUD-FRANCHI, J.-A. . Introduction à la taxonomie hiérarchique de la psychopathologie. **L'Encéphale**, v. 48, n. 1, p. 92–101, fev. 2022.
21. GUIAO, I.; ADAMS THOMPSON, E. ETHNICITY AND PROBLEM BEHAVIORS AMONG ADOLESCENT FEMALES IN THE UNITED STATES. **Health Care for Women International**, v. 25, n. 4, p. 296–310, abr. 2004.
22. HOAGWOOD, K. et al. Evidence-based practice in child and adolescent mental health services. **Psychiatric services (Washington, D.C.)**, v. 52, n. 9, p. 1179–89, 2001.
23. HOWREN, M. B.; LAMKIN, D. M.; SULTS, J. Associations of Depression With C-Reactive Protein, IL-1, and IL-6: A Meta-Analysis. **Psychosomatic Medicine**, v. 71, n. 2, p. 171–186, fev. 2009.
24. **IL-5 Polyclonal Antibody (PA5-96761)**. Disponível em: <[https://www.thermofisher.com/antibody/product/PA5-96761.html?gclid=Cj0KCQiAkMGcBhCSARIsAIW6d0DW6jLBCPglrA1qYhsGAWYnk762lx20Aci-LWaoEXxP0W1eWYrx1qwaApMEEALw\\_wcB&ef\\_id=Cj0KCQiAkMGcBhCSARIsAIW6d0DW6jLBCPglrA1qYhsGAWYnk762lx20Aci-LWaoEXxP0W1eWYrx1qwaApMEEALw\\_wcB:G:s&s\\_kwid=AL](https://www.thermofisher.com/antibody/product/PA5-96761.html?gclid=Cj0KCQiAkMGcBhCSARIsAIW6d0DW6jLBCPglrA1qYhsGAWYnk762lx20Aci-LWaoEXxP0W1eWYrx1qwaApMEEALw_wcB&ef_id=Cj0KCQiAkMGcBhCSARIsAIW6d0DW6jLBCPglrA1qYhsGAWYnk762lx20Aci-LWaoEXxP0W1eWYrx1qwaApMEEALw_wcB:G:s&s_kwid=AL)>. Acesso em: 8 dez. 2022.
25. IRANI, S.; LANG, B. Autoantibody-mediated disorders of the central nervous system. **Autoimmunity**, v. 41, n. 1, p. 55–65, jan. 2008.
26. JAFFEE, S. R. et al. Influence of Adult Domestic Violence on Children's Internalizing and Externalizing Problems: An Environmentally Informative Twin Study. **Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry**, v. 41, n. 9, p. 1095–1103, set. 2002.
27. JANSEN, J. et al. P.1.f.005 Cytokines and mood in healthy young adults. **European Neuropsychopharmacology**, v. 25, p. S227–S228, set. 2015.
28. JEON, H. J. **Depression and suicide**. Journal of the Korean Medical Association, v. 54, n. 4, p. 370, 2011.
29. KAESS, M. Bullying: peer-to-peer maltreatment with severe consequences for child and adolescent mental health. **European Child & Adolescent Psychiatry**, v. 27, n. 8, p. 945–947, 12 jul. 2018.

30. KATILA, H. et al. Interferon Production in Acute Psychiatric Disorders. **Psychiatry and Biological Factors**, p. 191–196, 1991. (c)
31. KEWALRAMANI, A.; BOLLINGER, M. E. Rapid Effects of Inhaled Corticosteroids in Acute Asthma: An Evidence-Based Evaluation. **Pediatrics**, v. 120, n. Supplement\_3, p. S140–S140, 1 nov. 2007.
32. KIELING, C. et al. **Child and adolescent mental health worldwide: evidence for action**. *The Lancet*, v. 378, n. 9801, p. 1515–1525, out. 2011.
33. LA MAISON, C. et al. Prevalence and risk factors of psychiatric disorders in early adolescence: 2004 Pelotas (Brazil) birth cohort. **Social Psychiatry and Psychiatric Epidemiology**, v. 53, n. 7, p. 685–697, 13 abr. 2018.
34. LA MAISON, C. et al. Prevalence and risk factors of psychiatric disorders in early adolescence: 2004 Pelotas (Brazil) birth cohort. **Social Psychiatry and Psychiatric Epidemiology**, v. 53, n. 7, p. 685–697, 13 abr. 2018.
35. LEE, H. et al. Prospective study on cytokine levels in medication-naïve adolescents with first-episode major depressive disorder. **Journal of Affective Disorders**, v. 266, p. 57–62, abr. 2020.
36. LICHTBLAU, N. et al. Cytokines as biomarkers in depressive disorder: current standing and prospects. **International Review of Psychiatry** (Abingdon, England), v. 25, n. 5, p. 592–603, 1 out. 2013.
37. LIPPARD, E. T. C.; NEMEROFF, C. B. The Devastating Clinical Consequences of Child Abuse and Neglect: Increased Disease Vulnerability and Poor Treatment Response in Mood Disorders. **American Journal of Psychiatry**, v. 177, n. 1, p. 20–36, 1 Jan. 2020.
38. MACHADO, T. M. B. Ancestralidade em Salvador - BA. 2008. 86 p. **Dissertação (Mestrado em Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa)** - Fundação Oswaldo Cruz, Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz, Salvador, 2008.
39. MAO, R. et al. Different levels of pro- and anti-inflammatory cytokines in patients with unipolar and bipolar depression. **Journal of Affective Disorders**, v. 237, p. 65–72, set. 2018.
40. MAYDYCH, V. The Interplay Between Stress, Inflammation, and Emotional Attention: **Relevance for Depression**. **Frontiers in Neuroscience**, v. 13, 24 abr. 2019.

41. MCLAUGHLIN, K. A.; HILT, L. M.; NOLEN-HOEKSEMA, S. Racial/Ethnic Differences in Internalizing and Externalizing Symptoms in Adolescents. **Journal of Abnormal Child Psychology**, v. 35, n. 5, p. 801–816, 17 maio 2007.
42. MECHAWAR, N.; SAVITZ, J. Neuropathology of mood disorders: do we see the stigmata of inflammation? **Translational Psychiatry**, v. 6, n. 11, p. e946–e946, nov. 2016.
43. MEDNOVA, I. A. et al. Cytokine level in patients with mood disorder, alcohol use disorder and their comorbidity. **The World Journal of Biological Psychiatry**, p. 1–11, 25 jul. 2022.
44. MERIKANGAS, R. N. et al. Epidemiology of mental disorders in children and adolescents. **Child and Adolescent Psychiatry**, v. 11, n. 1, p. 7–20, mar. 2009
45. MEVORACH, T. et al. The relationship between the plasma proinflammatory cytokine levels of depressed/anxious children and their parents. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, 3 jun. 2021.
46. MINTY, A. et al. Interleukin-13 is a new human lymphokine regulating inflammatory and immune responses. **Nature**, v. 362, n. 6417, p. 248–250, mar. 1993.
47. ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (2022). **Mental Health**. Disponível em: <[https://www.who.int/health-topics/mental-health#tab=tab\\_1](https://www.who.int/health-topics/mental-health#tab=tab_1)>.
48. PAOLUCCI, E. M. et al. Exercise reduces depression and inflammation but intensity matters. **Biological Psychology**, v. 133, p. 79–84, mar. 2018.
49. PÉREZ-BARRIENTOS, J. F. Implications of chronic stress and inflammation in major depressive disorder. **Revista Medicina Universitária**, v. 24, n. 3, 24 out. 2022
50. PESENTI-GRITTI, P. et al. The co-occurrence between internalizing and externalizing behaviors. **European Child & Adolescent Psychiatry**, v. 17, n. 2, p. 82–92, 10 set. 2007.
51. PETTY, C. R. et al. The child behavior checklist broad-band scales predict subsequent psychopathology: A 5-year follow-up. **Journal of Anxiety Disorders**, v. 22, n. 3, p. 532–539, abr. 2008.

52. PRATT, J.; HALL, J. Biomarkers in Neuropsychiatry: A Prospect for the Twenty-First Century? **Current Topics in Behavioral Neurosciences**, v. 40, p. 3–10, 2018.
53. RENNER, V.; PETROWSKI, K. Stress-induced pro- and anti-inflammatory cytokine concentrations in PTSD and MD patients. **Psychoneuroendocrinology**, v. 131, p. 105513, set. 2021.
54. ROBERTS, R. E.; ROBERTS, C. R.; XING, Y. Rates of DSM-IV psychiatric disorders among adolescents in a large metropolitan area. **Journal of Psychiatric Research**, v. 41, n. 11, p. 959–967, dez. 2007.
55. ROCHA, T. B. M. et al. Mood disorders in childhood and adolescence. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 35, n. suppl 1, p. S22–S31, 2013.
56. RYAN, S. M.; OLLENDICK, T. H. The Interaction Between Child Behavioral Inhibition and Parenting Behaviors: Effects on Internalizing and Externalizing Symptomatology. **Clinical Child and Family Psychology Review**, v. 21, n. 3, p. 320–339, 20 fev. 2018
57. SADOCK, B. J.; SADOCK, V. A.; RUIZ, P. **Kaplan & Sadock's comprehensive textbook of psychiatry**. 10. ed. Philadelphia: Wolters Kluwer, 2017.
58. SARAF, A. S.; NATH, S. Revisiting Omega and Veraguth's Sign. **Indian Journal of Psychological Medicine**, v. 41, n. 3, p. 295–297, maio de 2019.
59. SCARAMELLA, L. V.; CONGER, R. D.; SIMONS, R. L. Parental Protective Influences and Gender-Specific Increases in Adolescent Internalizing and Externalizing Problems. **Journal of Research on Adolescence**, v. 9, n. 2, p. 111–141, abr. 1999.
60. SERBIN, L. A. et al. The impact of children's internalizing and externalizing problems on parenting: Transactional processes and reciprocal change over time. **Development and Psychopathology**, v. 27, n. 4pt1, p. 969–986, 6 out. 2015.
61. SLADE, T. The descriptive epidemiology of internalizing and externalizing psychiatric dimensions. **Social Psychiatry and Psychiatric Epidemiology**, v. 42, n. 7, p. 554–560, 21 maio 2007.



62. SLOPEN, N.; KUBZANSKY, L. D.; KOENEN, K. C. Internalizing and externalizing behaviors predict elevated inflammatory markers in childhood. **Psychoneuroendocrinology**, v. 38, n. 12, p. 2854–2862, dez. 2013.
63. STONE, L. L. et al. The Co-Development of Parenting Stress and Childhood Internalizing and Externalizing Problems. **Journal of Psychopathology and Behavioral Assessment**, v. 38, n. 1, p. 76–86, 21 ago. 2015. (STONE et al., 2015)
64. STRIMBU, K.; TAVEL, J. A. What are biomarkers? **Current Opinion in HIV and AIDS**, v. 5, n. 6, p. 463–466, nov. 2010
65. TWENGE, J. M.; NOLEN-HOEKSEMA, S. Age, gender, race, socioeconomic status, and birth cohort difference on the children's depression inventory: A meta-analysis. **Journal of Abnormal Psychology**, v. 111, n. 4, p. 578–588, 2002.
66. VAN DEN AMEELE, S. et al. Markers of Inflammation and Monoamine Metabolism Indicate Accelerated Aging in Bipolar Disorder. **Frontiers in Psychiatry**, v. 9, 14 jun. 2018.
67. VAN DER VALK, J. C. et al. Genetic and Environmental Contributions to Stability and Change in Children's Internalizing and Externalizing Problems. **Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry**, v. 42, n. 10, p. 1212–1220, out. 2003.
68. VOORHEES, J. L. et al. Prolonged Restraint Stress Increases IL-6, Reduces IL-10, and Causes Persistent Depressive-Like Behavior That Is Reversed by Recombinant IL-10. **PLoS ONE**, v. 8, n. 3, p. e58488, 8 mar. 2013.
69. WALTON, K. E.; PAVLOS, S. R. Personality Theory and Psychopathology. **International Encyclopedia of the Social & Behavioral Sciences**, p. 914–919, 2015.
70. WANG, Q. et al. The recent progress in animal models of depression. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 77, p. 99–109, jul. 2017
71. WATSON, D. Rethinking the mood and anxiety disorders: A quantitative hierarchical model for DSM-V. **Journal of Abnormal Psychology**, v. 114, n. 4, p. 522–536, 2005.

72. WELLS, R. H. C. et al. **CID-10: classificação estatística internacional de doenças e problemas relacionados à saúde**. São Paulo: EDUSP. Acesso em: 07 dez. 2022. , 2011
73. WORKMAN, C. G.; PRIOR, M. **Depression and Suicide in Young Children**. *Issues in Comprehensive Pediatric Nursing*, v. 20, n. 2, p. 125–132, jan. 1997
74. WRIGHT, J. **International encyclopedia of the social & behavioural sciences**. 2. ed. Amsterdam: Elsevier, 2015.
75. ZHOU, J. et al. Sex-specific association between placental inflammatory cytokine mRNA expression and preschoolers' behavioral development: The Ma'anshan birth cohort study. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 104, p. 110–121, ago. 2022.
76. ZWICKER, A.; DENOVAN-WRIGHT, E. M.; UHER, R. Gene–environment interplay in the etiology of psychosis. **Psychological Medicine**, v. 48, n. 12, p. 1925–1936, 15 jan. 2018

**APÊNDICES OU ANEXOS****APÊNDICE 1:****VERSÃO EM INGLÊS DO ARTIGO****TITLE**

**“Environmental Factors and Cytokines Associated with Mood Disorders in Children”**

**AUTHORS**

Daniel Evangelista Santos<sup>1</sup>, Alberto Oliveira Moreira Santos<sup>1</sup>, Edson Henrique Bispo Amaral<sup>1</sup>, Caroline Alvez Feitosa <sup>2</sup>, Darci Neves dos Santos <sup>3</sup>, Mauricio Lima Barreto <sup>4</sup>, Camila Alexandrina Viana de Figueiredo <sup>5</sup>, Neuza Maria Alcântara-Neves <sup>6</sup>, Ryan dos Santos Costa <sup>3</sup>, Hatilla dos Santos Silva <sup>5</sup>, Pablo Rafael Silveira Oliveira<sup>1</sup>, Gabriela de Sales Guerreiro Britto<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Laboratory of Complex Diseases Genomics - Biology Institute, Federal University of Bahia

<sup>2</sup> Bahiana Medicine School and Public Health (EBMSP), Salvador, Bahia, Brasil

<sup>3</sup> Collective Health Institute, Federal University of Bahia, Salvador, Bahia, Brasil

<sup>4</sup> Center of Integrative Data and Knowledges for Health (CIDKH), Oswaldo Cruz Foundation (FIOCRUZ), Salvador, Bahia, Brasil

<sup>5</sup> Laboratory of Immunopharmacology and Molecular Biology, Collective Health Institute - Universidade Federal da Bahia (UFBA), Salvador, Bahia, Brasil

<sup>6</sup> Laboratory of Allergies and Parasitology, Collective Health Institute - Universidade Federal da Bahia (UFBA), Salvador, Bahia, Brasil

**PERIÓDICO CIENTÍFICO:** Biomarkers in Neuropsychiatry

**HOME PAGE:** <https://www.sciencedirect.com/journal/biomarkers-in-neuropsychiatry>

## HIGHLIGHTS

- The type of discipline and mental suffering on the main caregiver are associated to internalizing and externalizing mood disorders
- Immunophenotype profiles are weakly associated with mood disorders
- The cytokines IL-10, IL-13 and IFN- $\gamma$  are potential biomarkers for mood disorders in children
- In the present study, IL-13 has shown interesting potential as a Biomarker for mood disorders

## 1. INTRODUCTION

Mental Health problems affect between 10% to 20% of children worldwide ((KIELING et al., 2011)). According to Steel and collaborator (2014) in a meta-analysis run across 1980 and 2013, about 29% of the population from 63 countries report having some kind of mood disorder symptom in their lifetime. According to data published in the 1<sup>o</sup> Quarterly Bulletin on Disability Benefits (MS-BRASIL, 2017), mental disorders were the reason behind 9% of disease aid and disability retirement in Brazil, in the period of 2012 and 2016, representing the third main cause for work departure in the referred time period.

The first two decades of life are decisive years, because most adults report having developed mood disorders in those years (La Maison *et al.*, 2018). Therefore, youth mental health is one of the most important factors to guarantee health and quality of life to the population (OMS, 2022; Kathleen R. M., *et al.*, 2009). The assessment of mood disorders in children and adolescents grew in recent years (Rocha, T. *et al.*, 2013). Between the symptoms of mood disorders in children and adolescents, there is most recognized ones, such as social retraction, which is normally associated with

depression, but there are also less recognized symptoms, such as oppositional-defiant behavior (Achenbach, T.M., & Rescorla, L.A., 2001). Early assessment of which factors may be associated with the development of mood disorders is in the interest of public health (La Maison *et al.*, 2018; Rocha, T. *et al.*, 2013). Despite that, it is important to highlight gaps in our understanding of the role of environmental factors in the development of mood disorders.

Investigating topics about mental health, it is important to consider the interaction between an individual and their environment. The environment can be a determinant factor in the development and functioning of the cognitive capacity of an individual (Uher, R. & Zwickler, A., 2017). Most studies argue that the onset of mood disorder in this period is related to the development of the human brain, which is still happening throughout the early life, leaving the individual more sensitive to environmental factors (Wang, Qingzhong *et al.*, 2017). Among the main environmental factors associated with the onset of mood disorders in adults, low income and the type of discipline they had as children (Kathleen R. M., *et al.*, 2009).

Inflammatory processes have been associated to mood disorders in a variety of studies (Assary, Elham *et al.*, 2017; Lee, Hojun *et al.*, 2020; Mevorach, Tomer *et al.*, 2021; Oster, R. *et al.*, 2017). During stressful situations, there is a biological response which includes inflammation and neurophysiological changes that modulate affection processes, cognition and behavior (Maydych, M., 2019). Besides that, another study reported the interaction between cytokines levels in the blood and mood disorders symptoms (Assary, Elham *et al.*, 2017; Lee, Hojun *et al.*, 2020; Mevorach, Tomer *et al.*, 2021; Oster, R. *et al.*, 2017). As well as it was reported that pro-inflammatory cytokines can activate the Hypothalamic–pituitary–adrenal (HPA) axis, that is a part of the nervous system and endocrine system integration (Crane *et al.*, 2003, Renner, V. *et al.*, 2021). Potentially leading to hormonal levels alteration in individuals with mood disorders. Some of the cytokines associated with mood disorders in the literature are interleukin-10, interleukin-13 and INF- $\gamma$  (Assary, Elham *et al.*, 2017; Lee, Hojun *et al.*, 2020; Mevorach, Tomer *et al.*, 2021; Dowlati, Yekta *et al.*, 2009; Dhabhar, Firdaus *et al.*, 2009; Mechawar, N. *et al.*, 2016). Therefore, there is reports of association between other cytokine effects and psychopathologies, which is the case for interleukin-1 $\beta$  (Achenbach, T., 2021). In the present study, the environmental factors potentially associated with the onset of mood disorders was assessed for a population of children

in Salvador (Brazil). As well as the levels of cytokines with potential as biomarkers. The cohort is composed of children recruited for the project *Social Changes, Asthma and Allergy in Latin America* (SCAALA). Therefore, the studied region is in the northeast of Brazil, which presents a mixed-race population with high rates of individuals with African ancestry (MACHADO, T. M. B., 2008).

## 2. METHODS

### 2.1 Population sample and ethical considerations

The cohort used in this research is composed of children recruited by the *Social Changes, Asthma and Allergy in Latin America* (SCAALA) project in Salvador, Brazil. The characteristics of the cohort and methodology for data entry were previously described (Barreto *et al.* 2006). The SCAALA population studies were approved by the ethics committee in research from the Collective Health Institute of the Federal University of Bahia (registry 003-05/CEP-ISC). The Terms of Free and Informed Agreement (TFIA) of all participants in every interview and blood sampling were signed by the legal guardians. All methods and protocols used are in accordance with the Helsinki Declaration

The analyses used individuals in their childhood, between 5 and 12 years old (N=1445). The data were organized using SPSS, version 25 (IBM Corp., Armonk, N.Y., USA), sociodemographic data reported to be relevant in association analyses in the literature (Hakulinen, C., Mok, P.L.H., Horsdjal, H.T. *et al.* 2020; Peters, T. A. *et al.* 2019; Keijser, R *et al.* 2021). The data were categorized when necessary.

### 2.2 Psychological Assessment Instruments

The "Child Behavior Checklist" (CBCL) (Achenbach, T. M., 1991) was applied to assess symptoms suggestive of mood disorders in 2005, and the Youth Self-Report (YSR) in individuals with age higher than 11 in 2006. Besides that, the type of discipline used by the caregivers were assessed through the "Conflict Tactics Scales: Parent-child Version" (CTSPC), also applied in 2006. In 2013 the "Self-Report Questionnaire"

(SRQ-20) (Beusenbergh, M. Orley, John H & World Health Organization, 1994) was applied to identify mental suffering in the main caregiver.

The CBCL is a questionnaire that aims to identify mood disorders symptoms in children, aged 4 to 12, and is answered by the parent or guardian of the child. The CBCL has an oriented scale that converts the T scores from CBCL to the DSM-V parameters, which is considered reliable (Nakamura, Brad *et al.*, 2009). The CTSPC is a tool for assessing the type of discipline used and the presence of maltreatment (violent or not) in the raising of a child. Lastly, SRQ-20 is a self-report questionnaire that was used to identify mental suffering symptoms in the child's main caregivers. All the instruments used were translated and validated for the Brazilian population (Bordin, I. A. *et al* 1995; Bonfim, C.B. *et al.*, 2011; Rocha, M.M., 2012; Iacoponi E, Mari JJ., 1998). Besides that, the Brazilian translation of CBCL has reported high sensibility (87%). identifying 100% of the acute mood disorders cases and 95% of the mild ones (Bordin, I. A. *et al* 1995).

### **2.3 Identifying Symptoms Cases**

The symptoms of mood disorders were evaluated through the T scores of CBCL outputs. The children with T scores equal to or above 64 in one out of the two mood disorders scales (internalizing and externalizing) were classified as cases. Although children with borderline scores (60 to 63) were grouped with the control group, individuals with T scores lower than 60. After that, the T test of Student was used to assess normality of data. As well as the frequency of variables were done with SPSS, version 25.

During the period of 2005 and 2013, sociodemographic data about the household were collected. A questionnaire was applied to assess those variables in children. This questionnaire was applied in different returns. The data of family monthly income and mother level of education were collected in 2013.

### **2.4 Cytokines**

The blood samples were collected during the year of 2013. The blood cytokines were dosed through ELISA. The concentration of IL-10, IL-5, IL-13 and IFN- $\gamma$  was

assessed due to having been associated previously in the literature with mood disorders (Lichtblau, N. *et al*, 2013; Katila, H. *et al*, 1991; Pérez-Barrientos, J. F., 2022; Mechawar, N. *et al*, 2016; Ameenle, S. *et al*, 2018, Silva, C. *et al*, 2017). The cytokines levels were categorized in immunophenotypes after *ex vivo* from mononuclear blood cells after stimulation from *Pokeweed mitogen*. The methodology for this cohort was previously described (Figueiredo C *et al.*, 2013). Lastly, the individuals were categorized according to their immunophenotypes profiles. That was defined by the combination of positive results for the presence of (IL-5, IL-13, IL-10 and IFN- $\gamma$ ) cytokines. Identified through cell culture from venous blood (Barreto, M.



., 2006; Figueiredo C *et al.*, 2013). The profiles were defined by Latent Class Analysis (LCA), individuals with low production of cytokines were considered non-responsive. The responsive group was composed by individuals with production of all cytokines (IFN- $\gamma$ , IL-5, IL-10 and IL-13). The intermediate group was characterized production of only IL-10 and IFN- $\gamma$  (cytokines of Th1 and T-Reg profiles), with a minority of IL-5 and IL-13 present (cytokines of Th2 profiles) (Figueiredo C *et al.*, 2013).

## 2.6 Association Analysis

Pearson's Chi-square test (Pearson, K., 1900) were run using SPSS (IBM Corp., Armonk, N.Y., USA). To assess if there is an association relationship between a chosen variable and the mood disorders cases it was considered p values equal or below 0.05, rejecting the null hypothesis.

Lastly, Besides the Chi-square test of independence, it was necessary to use the Mann-Whitney's U test. This test assesses the difference between two groups in an ordinal variable without a specific distribution (Mann & Whitney, 1947; Wilcoxon, 1945). The U test was used to analyze the relationship between the variation in cytokines levels in the blood samples from the children. This was necessary due to the high variance of the cytokines data. The U test was also performed using SPSS (IBM Corp., Armonk, N.Y., USA).

## 3. RESULTS

### 3.1 Population Characteristics

The studied population was composed of 1.445 individuals born between 1994 and 2000, meaning they were between 4 to 11 years old in the first data collection (2005). As well as 46,5% (673) of individuals are from the female sex. About 28,2% (408) of mothers had completed High School. 37,1% (537) had a monthly income between 678,00 R\$ and 1355,99 R\$, roughly 333,99 - 667,97 Dollars at the time (2013), 39,9% (447) of main caregivers reported mental suffering, 66,2% (958) used violent maltreatment in the child's discipline, 69,9% (1011) used non-violent discipline

and 44,6% (646) used non-violent maltreatment. In total, the data from 1364 children were analyzed. From those, 31,1% (450) had internalizing mood disorders symptoms and 29,4% (425) had externalizing mood disorders symptoms. Children with both kinds of mood disorders were not excluded from analysis (Achenbach, 2016)

### 3.2 Environmental Factors and Outcome Association

Firstly, the frequency was investigated to characterize the population and the categories of children with the outcomes studied, meaning, Internalizing mood disorder symptoms (IMD) and externalizing mood disorder symptoms (EMD). Subsequently, normality distribution models were tested for the mood disorders data. In light of that, it was observed that both datasets were normally distributed. Therefore, the Chi-square of independence ( $\chi^2$ ) analysis was executed to assess the relation of all environmental factors with the investigated outcomes (IMD and EMD) (**Table 1**). Monthly family income was significantly associated to the presence of externalizing mood disorders ( $p=1 \times 10^{-3}$ ) and internalizing mood disorders ( $p=1,6 \times 10^{-2}$ ). An association between the kind of discipline and mood disorder symptoms was also found, violent maltreatment and IMD ( $p=8,2184 \times 10^{-7}$ ) and EMD ( $p=2,3104 \times 10^{-7}$ ), Non-violent discipline was associated with IMD ( $p=1,106 \times 10^{-3}$ ) and EMD ( $p=8,29 \times 10^{-4}$ ). Non-violent maltreatment was also associated with IMD ( $p=1,3268 \times 10^{-13}$ ) and EMD ( $p=1,0498 \times 10^{-23}$ ), the main caregiver mental suffering was also significantly associated with both mood disorders, IMD ( $0,39676 \times 10^{-15}$ ) e EMD ( $p=4,4031 \times 10^{-9}$ ).

**Table 1.** Association between environmental factors and symptoms of mood disorders in childhood

Description	n (%)	p value ( $\chi^2$ )			
		Childhood			
		IMD*	n (%)	EMD*	n (%)
<b>Sex</b>	Female	$1,4 \times 10^{-7}$	1364 (94,3)	$8 \times 10^{-2}$	1364 (94,3)
<b>Mother Education Level</b>	Illiterate				
	Primary School Drop out	$8 \times 10^{-2}$	1345 (93,0)	$2 \times 10^{-2}$	1345 (93,0)
	Until 4 <sup>th</sup> grade				

	Between 5 <sup>o</sup> and 8 <sup>o</sup> grade	365 (25,2)				
	Until 8 <sup>o</sup> grade	96 (6,6)				
	High School Drop out	216 (14,6)				
	High School	408 (28,2)				
	Undergrade Drop out	15 (1,0)				
	Undergrade	7 (0,5)				
<b>Monthly Family Income (R\$)</b>	< 300,00	63 (4,4)				
	300,00-677,99	304 (21,0)				
	678,00-1355,99	537 (37,1)	<b>4,0x10<sup>-15</sup></b>	1085 (75,0)	<b>1,0x10<sup>-3</sup></b>	1085 (75,0)
	1356,00-2711,99	189 (13,1)				
	≥ 2712,00	35 (2,4)				
<b>Score SRQ-20</b>	Present	447 (39,9)	<b>4,0x10<sup>-15</sup></b>	1088 (75,2)	<b>4,4x10<sup>-9</sup></b>	1071 (74,0)
<b>Violent Maltreatment</b>	Present	958 (66,2)	<b>8,2x10<sup>-7</sup></b>	1344 (92,9)	<b>2,3x10<sup>-7</sup></b>	1344 (92,9)
<b>Non-violent Discipline</b>	Present	1011 (69,9)	<b>1,1x10<sup>-3</sup></b>	1344 (92,9)	<b>8,3x10<sup>-4</sup></b>	1344 (92,9)
<b>Non-violent Maltreatment</b>	Present	646 (44,6)	<b>1,3x10<sup>-13</sup></b>	1344 (92,9)	<b>1,0x10<sup>-23</sup></b>	1344 (92,9)

Data collected in the year 2005. Abreviation, IMD: Internalizing Mood Disorders. EMD: Externalizing Mood Disorders. SRQ-20: Self Report Questionnaire (test for mental suffering in the main caregiver). \*there is superposition between values of DI and DE.

### 3.3 Association between Outcomes and Cytokines

Normality was also tested for the cytokines levels data which was not normally distributed. In this context, the categorical data of immunophenotypes profiles was used for a Chi-square analysis (**Table 2**). In light of this, the immunophenotype profile was significantly associated only with externalizing mood disorders ( $p=2,0 \times 10^{-2}$ ). However, it was not observed any other association between the profiles grouping and the presence of mood disorders. Therefore, we hypothesized that the association between cytokines levels separately and mood disorders symptoms could be more strongly associated.

Description	n (%)	p value ( $\chi^2$ )	
		Childhood	
Immunophenotype		CI	CE
Non-responsive	194 (17,2)	$9 \times 10^{-2}$	$2 \times 10^{-2}$

Intermediate	129 (11,4)
Responsive	804 (71,3)

Abreviation, IMD: Internalizing Mood Disorders. EMD: Externalizing Mood Disorders.

**Table 2.** Association between immunophenotypes and symptoms of mood disorders

Subsequently, the analysis of cytokines separate data from the blood sample, through the Mann-Whitney's U test. Due to this test capacity to work with the cytokine's levels in the mood disorders cases, despite the non-uniform variance of data (**Table 3**). It was observed significant association between IL-10 levels and IMD ( $p=4,7 \times 10^{-2}$ ) and EMD ( $p=1,8 \times 10^{-2}$ ). As wells as, the concentration of IL-13 for IMD ( $p=2,0 \times 10^{-2}$ ) and EMD ( $p=1,5 \times 10^{-2}$ ). Lastly, it was also observed significant association between IFN- $\gamma$  and EMD ( $p=2 \times 10^{-2}$ ).

**Table 3.** Association between cytokines concentration IFN- $\gamma$ , IL-5, IL-10 and IL-13 and symptoms of mood disorders in children.

Cytokine	<u>p value (Mann-Whitney's Test U)</u>			
	Childhood			
	IMD		EMD	
	Median (IQRs)*	p	Median (IQRs)*	P
IFN- $\gamma$	281,25 (211,58 - 281,25)	$1,6 \times 10^{-1}$	281,25 (144,31 - 281,25)	$2 \times 10^{-2}$
IL-5	54,09 (0,005 - 164,75)	$1,7 \times 10^{-1}$	57,5 (0,005 - 150,56)	$1,8 \times 10^{-1}$
IL-10	468,75 (366,66 - 468,75)	$4,7 \times 10^{-2}$	468,87 (372,08 - 468,87)	$1,8 \times 10^{-2}$
IL-13	346,76 (76,12 - 772,4)	$2 \times 10^{-2}$	352,41 (30,43 - 810,96)	$1,5 \times 10^{-2}$

Abreviation, IMD: Internalizing Mood Disorders. EMD: Externalizing Mood Disorders. \*For the median data and quartis were only considered the cases for each mood disorders.

#### 4. DISCUSSION

Family monthly income during childhood and adolescence is an environmental factor associated with the onset of mood disorders in a Denmark adult population (Hakulinen, C., Mok, P.L.H., Horsdzal, H.T. *et al.* 2020). Despite that, other factors such as mother level of education, SRQ-20 scores of the main caregiver and type of discipline used, were investigated as possible relevant environmental factors. It was

already shown that intrafamilial violence is a risk factor for the onset of asthma symptoms in children for our cohort (SCAALA) (Bonfim, C. & Santos, D. & Barreto, M., 2015). Considering the fact that the same study demonstrated that the internalizing mood disorders has an influence in the occurrence of asthma symptoms (Bonfim, C. & Santos, D. & Barreto, M., 2015). It is possible that childhood trauma can be associated with the onset of mood disorders (Peters, T. A. *et al* 2019), it is plausible that a relationship between the presence of maltreatment and the onset of mood disorders symptoms. According to the analysis results, the type of discipline seems to be associated with the onset of mood disorders.

There wasn't an association between internalizing mood disorders and mother level of education ( $p = 8 \times 10^{-2}$ ) (**Table 1**). However, there is a relation between externalizing symptoms and mother level of education ( $p = 1,9 \times 10^{-2}$ ). All values of  $p$  were significant for the three types of discipline when associated with internalizing and externalizing mood disorders. In light of that, it can be inferred that there is an association between the onset of these disorders in early life and these factors. Another two factors with significant values were the family monthly income ( $p = 0,016$ , for IMD) and ( $p = 1,0 \times 10^{-3}$  for EMD). As well as the result for SRQ-20 of the main caregiver IMD ( $p = 0.39676 \times 10^{-15}$ ) and EMD ( $p = 4,4031 \times 10^{-9}$ ). These results support previous findings in different population in the literature (Hakulinen, C., Mok, P.L.H., Horsdjal, H.T. *et al.* 2020; Keijsers, R *et al.* 2021).

About the cytokine's levels, firstly it was tested the association between the immunophenotype profiles (**Table 2**). This analysis suggests that the immunophenotypes are only associated with externalizing mood disorders ( $p = 0,021$ ). However, the Mann-Whitney's U test with cytokines separately showed better results (**Table 3**). This suggests that using these immunophenotype profiles as biomarkers may not be an ideal approach, in these types of diagnosis. In this context, a significant association was identified between IL-10 and IL-13 concentrations and the occurrence of IMD or EMD in children. Lastly, IFN- $\gamma$  was only associated with EMD in children. Barreto, M.

IL-13 has been associated with both types of mood disorders and this result is interesting since this cytokine is normally associated with an immune response in the airways (Minty, A. *et al*, 1993). Studies with the same cohort (SCAALA) have shown that there is an association between asthma and internalizing mood disorders.

However, this association is not mediated by immunological and allergic factors (Bonfim, C. *et al*, 2015). Therefore, the results for IL-13 observed in this study are probably not a consequence of asthma, suggesting that IL-13 may have potential as a biomarker of symptoms of mental disorders. Thus, further studies are needed to assess the effectiveness of IL-13 as a possible biomarker.

IL-10 has already been studied due to its possible relationship with mood disorders (Voorhees, J. *et al*, 2013; Silva, C. *et al*, 2017; Zhou, J. *et al*, 2022). Despite this, the results of this study do not corroborate the data in the literature that IL-10 has no association with internalizing mood disorders (Silva, C. *et al*, 2017). IL-10 has an interaction with IL-6 that may possibly play an important role in the onset of symptoms of mental disorders (Voorhees, J. *et al*, 2013). For this reason, future studies should evaluate the role of the interaction of both cytokines and their potential as biomarkers

The possibility of using cytokines as biomarkers is especially important for Brazil due to the Brazilian National Health Service. Since the use of cytokines in peripheral blood may be a cheap methodology to quickly diagnose mood disorders. Because of this, the Brazilian National Health Service can become a pioneer in social projects that seek to improve the mental health of the population, through medical signs supporting diagnosis based on symptoms. Populations in poor or developing countries tend to neglect the mental health of young people (Kieling, C. *et al*, 2011), increasing this population's exposure to risk factors. For this reason, studying the role of sociodemographic factors associated with the development of symptoms suggestive of mental disorders is important for public health in Brazil. The results of this study may help to elucidate the role of specific sociodemographic factors in the development of symptoms related to mood disorders in a mixed-race population, as is the case of the investigated cohort.

It is of interest for research in the area to investigate whether the results of this study are also valid for adolescents. In this case, there is the challenge of assessing symptoms suggestive of mental disorders from different informants (Achenbach, T. M., McConaughy, S. H., & Howell, C. T. 1987). In addition, the sociodemographic factors associated with the family are perhaps more important in childhood due to the fact that the family sphere is the most important for a child, while, in adolescence, there is a period of disruption of this exclusive relationship with the family sphere. Therefore,

factors associated with other social spheres, such as peer relationships, may be the best predictors of symptoms in adolescence (Kaess, M., 2018).

Finally, neuropsychiatry still needs to develop medical signs to act as complementary in the diagnosis of mood disorders. In this context, the use of biomarkers can help development of more robust diagnosis in the future. This study identified IL-10, IL-13 and IFN- $\gamma$  as possible candidates as biomarkers for mood disorders in children. Its also necessary to identify environmental factors of interest in multiple populations to follow the epidemiology of mood disorders. Therefore, this study observed that environmental factors such as the type of discipline, family average earnings and mental suffering in the main caretaker are factors that demonstrated being associated with mood disorders in a mixed-race population of Salvador, Brazil.

## 5. ACKNOWLEDGEMENT

We thank *The Social Changes, Asthma and Allergy in Latin America* (SCAALA) group for collecting the data used in this study. We also thank FAPESB and CNPq for the research grants.

## 6. CONFLICT OF INTERESTS

The authors declare that they have no conflict of interest of any kind.

## 7. REFERENCES

1. Kieling C, Baker-Henningham H, Belfer M, Conti G, Ertem I, Omigbodun O, Rohde LA, Srinath S, Ulkuer N, Rahman A. Child and adolescent mental health worldwide: evidence for action. *Lancet*. 2011 Oct 22;378(9801):1515-25. doi: 10.1016/S0140-6736(11)60827-1. Epub 2011 Oct 16. PMID: 22008427.
2. Organização Mundial da Saúde. (2022). Mental Health. Retirado de <https://www.who.int/health-topics/mental-health#tab=tab 1>
3. Jeon, Hong Jin. (2016). Depression and suicide. *J Korean Med Assoc*. 54. 370-375. 10.5124/jkma.2011.54.4.370.

4. Workman, C. G., & Prior, M. (1997). Depression and suicide in young children. *Issues in comprehensive pediatric nursing*, 20(2), 125–132. <https://doi.org/10.3109/01460869709026883>
5. La Maison, C., Munhoz, T. N., Santos, I. S., Anselmi, L., Barros, F. C., & Matijasevich, A. (2018). Prevalence and risk factors of psychiatric disorders in early adolescence: 2004 Pelotas (Brazil) birth cohort. *Social psychiatry and psychiatric epidemiology*, 53(7), 685–697. <https://doi.org/10.1007/s00127-018-1516-z>
6. Hoagwood, Kimberly & Burns, Barbara & Kiser, Laurel & Ringeisen, Heather & Schoenwald, Sonja. (2001). Evidence-Based Practice in Child and Adolescent Mental Health Services. *Psychiatric services (Washington, D.C.)*. 52. 1179-89. [10.1176/appi.ps.52.9.1179](https://doi.org/10.1176/appi.ps.52.9.1179).
7. Sadock, B. J., Sadock, V. A., Ruiz, P., & Kaplan, H. I. (2017). *Kaplan and Sadock's comprehensive textbook of psychiatry* (10th ed.). Wolters Kluwer.
8. AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION - APA. Manual diagnóstico e estatístico de transtornos mentais: DSM-5. Porto Alegre: Artmed, 2014.
9. Wells, R. H. C., Bay-Nielsen, H., Braun, R., Israel, R. A., Laurenti, R., Maguin, P., & Taylor, E. (2011). CID-10: classificação estatística internacional de doenças e problemas relacionados à saúde. São Paulo: EDUSP.
10. Merikangas, Kathleen & Nakamura, Erin & Kessler, Ronald. (2009). Epidemiology of mental disorders in children and adolescents. *Dialogues in Clinical NeuroSciences*, 11(1), 7-20. *Dialogues in clinical neuroscience*. 11. 7-20.
11. ACHENBACH, T. M. Manual for the child behavior checklist/ 4-18 and 1991 profile. Burlington, VT: University of Vermont Department of Psychiatry, 1991.
12. Petty, C. R., Rosenbaum, J. F., Hirshfeld-Becker, D. R., Henin, A., Hubley, S., LaCasse, S., Faraone, S. V., & Biederman, J. (2008). The child behavior checklist broad-band scales predict subsequent psychopathology: A 5-year follow-up. *Journal of anxiety disorders*, 22(3), 532–539. <https://doi.org/10.1016/j.janxdis.2007.04.003>
13. Achenbach, T. M., Ivanova, M. Y., Rescorla, L. A., Turner, L. V., & Althoff, R. R. (2016). Internalizing/Externalizing Problems: Review and Recommendations for Clinical and Research Applications. *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry*.



and *Adolescent Psychiatry*, 55(8), 647–656.  
<https://doi.org/10.1016/j.jaac.2016.05.012>

14. Lippard, Elizabeth. (2019). The Devastating Clinical Consequences of Child Abuse and Neglect: Increased Disease Vulnerability and Poor Treatment Response in Mood Disorders. *American Journal of Psychiatry*. 177. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2019.19010020>.
15. Kotov, R., Krueger, R. F., Watson, D., Achenbach, T. M., Althoff, R. R., Bagby, R. M., Brown, T. A., Carpenter, W. T., Caspi, A., Clark, L. A., Eaton, N. R., Forbes, M. K., Forbush, K. T., Goldberg, D., Hasin, D., Hyman, S. E., Ivanova, M. Y., Lynam, D. R., Markon, K., Miller, J. D., ... Zimmerman, M. (2017). The Hierarchical Taxonomy of Psychopathology (HiTOP): A dimensional alternative to traditional nosologies. *Journal of abnormal psychology*, 126(4), 454–477. <https://doi.org/10.1037/abn0000258>
16. Gauld, C., Giroux, É., & Micoulaud-Franchi, J. A. (2022). Introduction à la taxonomie hiérarchique de la psychopathologie [Introduction to the hierarchical taxonomy of psychopathology]. *L'Encephale*, 48(1), 92–101. <https://doi.org/10.1016/j.encep.2021.05.008>
17. Watson, D. (2005). Rethinking the mood and anxiety disorders: A quantitative hierarchical model for DSM-V. *Journal of Abnormal Psychology*, 114(4), 522–536. <https://doi.org/10.1037/0021-843X.114.4.522>
18. Achenbach, Thomas. (2021). Hierarchical dimensional models of psychopathology: yes, but.... *World Psychiatry*. 20. 64-65. [10.1002/wps.20810](https://doi.org/10.1002/wps.20810).
19. Pesenti-Gritti, P., Spatola, C.A.M., Fagnani, C. et al. The co-occurrence between internalizing and externalizing behaviors. *Eur Child Adolesc Psychiatry* 17, 82–92 (2008). <https://doi.org/10.1007/s00787-007-0639-7>
20. BORDIN, I. A.; MARI, J. J.; CAEIRO, M. F. Validação da versão brasileira do “Child Behavior Checklist” (CBCL)(Inventário de Comportamentos da Infância e Adolescência): 109 dados preliminares. *Rev ABPAPAL*, p. 55–66, 1995
21. BORDIN, I. A et al. Child Behavior Checklist (CBCL), Youth Self-Report (YSR) and Teacher’s Report Form (TRF): an overview of the development of the original and Brazilian versions. *Cadernos de saúde pública*, v. 29, n. 1, p. 13–28, 2013.

22. Achenbach, T.M., & Rescorla, L.A., (2001) *Manual for the ASEBA School-Age Forms & Profiles*. Burlington, VT: University of Vermont, Research Center for Children, Youth & Families
23. Rocha, T. B. M., Zeni, C. P., Caetano, S. C., & Kieling, C. (2013). Mood disorders in childhood and adolescence. *Revista Brasileira de Psiquiatria*, 35(suppl 1), S22–S31. doi:10.1590/1516-4446-2013-s106
24. Wright, J.D.. (2015). *International Encyclopedia of the Social & Behavioral Sciences: Second Edition*.
25. Craske, Michelle & Rauch, Scott & Ursano, Robert & Prenoveau, Jason & Pine, Daniel & Zinbarg, Richard. (2009). What Is an Anxiety Disorder?. *Depression and anxiety*. 26. 1066-85. 10.1002/da.20633.
26. Walton, K.E., & Pavlos, S.R. (2015). *Personality Theory and Psychopathology*.
27. McLaughlin, K.A., Hilt, L.M. & Nolen-Hoeksema, S. Racial/Ethnic Differences in Internalizing and Externalizing Symptoms in Adolescents. *J Abnorm Child Psychol* 35, 801–816 (2007). <https://doi.org/10.1007/s10802-007-9128-1>
28. Isabelita Guiao & Elaine Adams Thompson (2004) ETHNICITY AND PROBLEM BEHAVIORS AMONG ADOLESCENT FEMALES IN THE UNITED STATES, *Health Care for Women International*, 25:4, 296-310, DOI: 10.1080/07399330490278330
29. Barker, E., Cecil, C., Walton, E., Houtepen, L., O'Connor, T., Danese, A., . . . Roberts, S. (2018). Inflammation-related epigenetic risk and child and adolescent mental health: A prospective study from pregnancy to middle adolescence. *Development and Psychopathology*, 30(3), 1145-1156. doi:10.1017/S0954579418000330
30. Twenge, J. M., & Nolen-Hoeksema, S. (2002). Age, gender, race, socioeconomic status, and birth cohort difference on the children's depression inventory: A meta-analysis. *Journal of Abnormal Psychology*, 111(4), 578–588. <https://doi.org/10.1037/0021-843X.111.4.578>
31. IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. PCERP - Pesquisa das Características Étnico-Raciais da População. Rio de Janeiro: IBGE, 2008.

32. Slade, T. The descriptive epidemiology of internalizing and externalizing psychiatric dimensions. *Soc Psychiat Epidemiol* 42, 554–560 (2007). <https://doi.org/10.1007/s00127-007-0200-5>
33. Wang, Qingzhong & Timberlake, Matthew & Prall, Kevin & Dwivedi, Yogesh. (2017). The recent progress in animal models of depression. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*. 77. 10.1016/j.pnpbp.2017.04.008.
34. Zwicker, A., Denovan-Wright, E., & Uher, R. (2018). Gene–environment interplay in the etiology of psychosis. *Psychological Medicine*, 48(12), 1925–1936. doi:10.1017/S003329171700383X
35. Beeson, C.M.L., Brittain, H. & Vaillancourt, T. The Temporal Precedence of Peer Rejection, Rejection Sensitivity, Depression, and Aggression Across Adolescence. *Child Psychiatry Hum Dev* 51, 781–791 (2020). <https://doi.org/10.1007/s10578-020-01008-2>
36. Kaess, M. Bullying: peer-to-peer maltreatment with severe consequences for child and adolescent mental health. *Eur Child Adolesc Psychiatry* 27, 945–947 (2018). <https://doi.org/10.1007/s00787-018-1201-5>
37. Laura V. Scaramella, Rand D. Conger & Ronald L. Simons (1999) Parental Protective Influences and Gender-Specific Increases in Adolescent Internalizing and Externalizing Problems, *Journal of Research on Adolescence*, 9:2, 111-141, DOI: 10.1207/s15327795jra0902\_1
38. Ryan, S.M., Ollendick, T.H. The Interaction Between Child Behavioral Inhibition and Parenting Behaviors: Effects on Internalizing and Externalizing Symptomology. *Clin Child Fam Psychol Rev* 21, 320–339 (2018). <https://doi.org/10.1007/s10567-018-0254-9>
39. Serbin, L., Kingdon, D., Ruttle, P., & Stack, D. (2015). The impact of children's internalizing and externalizing problems on parenting: Transactional processes and reciprocal change over time. *Development and Psychopathology*, 27(4pt1), 969-986. doi:10.1017/S0954579415000632
40. Stone, L.L., Mares, S.H.W., Otten, R. et al. The Co-Development of Parenting Stress and Childhood Internalizing and Externalizing Problems. *J Psychopathol Behav Assess* 38, 76–86 (2016). <https://doi.org/10.1007/s10862-015-9500-3>

41. Moffitt, Terrie & Caspi, Avshalom & Taylor, Alan & Arseneault, Louise. (2002). Influence of Adult Domestic Violence on Children's Internalizing and Externalizing Problems: An Environmentally Informative Twin Study. *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry*. 41. 1095-103. 10.1097/00004583-200209000-00010.
42. Valk, Jolande & Oord, Edwin & Verhulst, Frank & Boomsma, Dorret. (2003). Genetic and Environmental Contributions to Stability and Change in Children's Internalizing and Externalizing Problems. *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry*. 42. 1212-20. 10.1097/00004583-200310000-00012.
43. Slopen, Natalie & Kubzansky, Laura & Koenen, Karestan. (2013). Internalizing and externalizing behaviors predict elevated inflammatory markers in childhood. *Psychoneuroendocrinology*. 38. 10.1016/j.psyneuen.2013.07.012.
44. Barker, E., Cecil, C., Walton, E., Houtepen, L., O'Connor, T., Danese, A., . . . Roberts, S. (2018). Inflammation-related epigenetic risk and child and adolescent mental health: A prospective study from pregnancy to middle adolescence. *Development and Psychopathology*, 30(3), 1145-1156. doi:10.1017/S0954579418000330
45. Nicole Lichtblau, Frank M. Schmidt, Robert Schumann, Kenneth C. Kirkby & Hubertus Himmerich (2013) Cytokines as biomarkers in depressive disorder: Current standing and prospects, *International Review of Psychiatry*, 25:5, 592-603, DOI: 10.3109/09540261.2013.813442
46. Maydych V. (2019). The Interplay Between Stress, Inflammation, and Emotional Attention: Relevance for Depression. *Frontiers in neuroscience*, 13, 384. <https://doi.org/10.3389/fnins.2019.00384>
47. Mevorach, T., Taler, M., Dar, S. et al. The relationship between the plasma proinflammatory cytokine levels of depressed/anxious children and their parents. *Sci Rep* 11, 11798 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-90971-4>
48. Renner, Vanessa & Petrowski, Katja. (2021). Stress-induced pro- and anti-inflammatory cytokine concentrations in PTSD and MD patients. *Psychoneuroendocrinology*. 131. 105513. 10.1016/j.psyneuen.2021.105513.

49. Lee, Hojun & Song, Minjae & Lee, Jong-ha & Kim, Jung-Bum & Lee, Moon-Soo. (2020). Prospective study on cytokine levels in medication-naïve adolescents with first-episode major depressive disorder. *Journal of Affective Disorders*. 266. 10.1016/j.jad.2020.01.125.
50. Jansen, J. & Fernstrand, Amanda & Loo, A.J.A.E. & Garssen, J. & Verster, J.C. (2015). P.1.f.005 Cytokines and mood in healthy young adults. *European Neuropsychopharmacology*. 25. S227-S228. 10.1016/S0924-977X(15)30244-3.
51. Katila, H., Rimón, R., Cantell, K., Appelberg, B., Nikkilä, H. (1991). Interferon Production in Acute Psychiatric Disorders. In: Kurstak, E. (eds) *Psychiatry and Biological Factors*. Springer, Boston, MA. [https://doi.org/10.1007/978-1-4684-5811-4\\_17](https://doi.org/10.1007/978-1-4684-5811-4_17)
52. José F. Pérez-Barrientos (2022) Implications of chronic stress and inflammation in major depressive disorder. *Medicina Universitaria*. 24. Issue 3. 146-147
53. Ameele, Seline & Fuchs, Dietmar & Coppens, Violette & Boer, Peter & Timmers, Maarten & Sabbe, Bernard & Morrens, Manuel. (2018). Markers of Inflammation and Monoamine Metabolism Indicate Accelerated Aging in Bipolar Disorder. *Frontiers in Psychiatry*. 9. 10.3389/fpsy.2018.00250.
54. Silva, Cristiano & Costa, Marianna & Kapczinski, Flavio & Aguiar, Bianca & Salum, Giovanni & Manfro, Gisele. (2017). Inflammation and internalizing disorders in adolescents. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry*. 77. 10.1016/j.pnpbp.2017.03.023.
55. Beusenbergh, M, Orley, John H & World Health Organization. Division of Mental Health. (1994). *A User's guide to the self-reporting questionnaire (SRQ / compiled by M. Beusenbergh and J. Orley. World Health Organization.* <https://apps.who.int/iris/handle/10665/61113>
56. Voorhees, Jeffery & Tarr, Andrew & Wohleb, Eric & Godbout, Jonathan & Mo, Xiaokui & Sheridan, John & Eubank, Timothy & Marsh, Clay. (2013). Prolonged Restraint Stress Increases IL-6, Reduces IL-10, and Causes Persistent Depressive-Like Behavior That Is Reversed by Recombinant IL-10. *PloS one*. 8. e58488. 10.1371/journal.pone.0058488.
57. Zhou, Jixing & Zhang, Fu & Teng, Yuzhu & Ru, Xue & Li, Peixuan & Wang, Jianqing & Yan, Shuangqin & Zhu, Peng & Tao, Fangbiao & Huang, Kun.

- (2022). Sex-specific association between placental inflammatory cytokine mRNA expression and preschoolers' behavioral development: The Ma'anshan birth cohort study. *Brain, Behavior, and Immunity*. 104. 10.1016/j.bbi.2022.05.017.
58. Bonfim, Camila & Santos, Darci & Barreto, Mauricio. (2015). The association of intrafamilial violence against children with symptoms of atopic and non-atopic asthma: A cross-sectional study in Salvador, Brazil. *Child Abuse & Neglect*. 65. 10.1016/j.chiabu.2015.05.021.
59. Minty, A., Chalon, P., Derocq, JM. et al. Interleukin-13 is a new human lymphokine regulating inflammatory and immune responses. *Nature* 362, 248–250 (1993). <https://doi.org/10.1038/362248a0>
60. Hakulinen, C., Mok, P.L.H., Horsdal, H.T. et al. Parental income as a marker for socioeconomic position during childhood and later risk of developing a secondary care-diagnosed mental disorder examined across the full diagnostic spectrum: a national cohort study. *BMC Med* 18, 323 (2020). <https://doi.org/10.1186/s12916-020-01794-5>
61. Keijsers R, Åslund C, Nilsson KW, Olofsdotter S. Gene-environment interaction: Oxytocin receptor (OXTR) polymorphisms and parenting style as potential predictors for depressive symptoms. *Psychiatry Res*. 2021 Sep;303:114057. doi: 10.1016/j.psychres.2021.114057. Epub 2021 Jun 8. PMID: 34144447.
62. IBM Corp. Released 2020. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 27.0. Armonk, NY: IBM Corp
63. Pearson, K., 1900. X. On the criterion that a given system of deviations from the probable in the case of a correlated system of variables is such that it can be reasonably supposed to have arisen from random sampling. *The London, Edinburgh, and Dublin Philosophical Magazine and Journal of Science*, 50(302), pp.157–175. Available at: <https://doi.org/10.1080/14786440009463897>.
64. Mann, H.B. and Whitney, D.R. (1947) On a Test of Whether One of Two Random Variables Is Stochastically Larger than the Other. *Annals of Mathematical Statistics*, 18, 50-60. <http://dx.doi.org/10.1214/aoms/1177730491>
65. Wilcoxon, F. (1945). Individual Comparisons by Ranking Methods. *Biometrics Bulletin*, 1(6), 80–83. <https://doi.org/10.2307/3001968>

66. Figueiredo, Camila & Amorim, Leila & Alcantara-Neves, Neuza & Alvim, Sheila & Cooper, Philip & Rodrigues, Laura & Barreto, Mauricio. (2013). Environmental conditions, immunologic phenotypes, atopy, and asthma: new evidence of how hygiene hypothesis operates in Latin America. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 131. 10.1016/j.jaci.2013.01.016.
67. Barreto, M.L., Cunha, S.S., Alcântara-Neves, N. et al. Risk factors and immunological pathways for asthma and other allergic diseases in children: background and methodology of a longitudinal study in a large urban center in Northeastern Brazil (Salvador-SCAALA study). *BMC Pulm Med* 6, 15 (2006)

## APÊNDICE 2:

**Tabela 1.** Associação entre fatores socioambientais e sintomas de alterações de internalização ou externalização, na infância.

Descrição	n (%)	p valor (Teste $\chi^2$ )			
		Infância		Infância	
		CI*	n (%)	CE*	n (%)
<b>Sexo</b>	Feminino	$1,4 \times 10^{-7}$	1364 (94,3)	$8 \times 10^{-2}$	1364 (94,3)
<b>Escolaridade materna</b>	Não lê ou escreve		21 (1,5)		
	Primário incompleto		168 (11,6)		
	Até a 4ª série		127 (8,8)		
	Entre a 5ª e 8ª séries		365 (25,2)		
	Até 8ª série	$8 \times 10^{-2}$	1345 (93,0)	$2 \times 10^{-2}$	1345 (93,0)
	2º grau Incompleto		216 (14,6)		
	2º grau Completo		408 (28,2)		
	Superior Incompleto		15 (1,0)		
<b>Renda Mensal Familiar (R\$)</b>	Superior Completo		7 (0,5)		
	< 300,00		63 (4,4)		
	300,00-677,99		304 (21,0)		
	678,00-1355,99	$4,0 \times 10^{-15}$	1085 (75,0)	$1,0 \times 10^{-3}$	1085 (75,0)
	1356,00-2711,99		537 (37,1)		
<b>Escore SRQ-20</b>	1356,00-2711,99		189 (13,1)		
	$\geq 2712,00$		35 (2,4)		
<b>Maus tratos violentos</b>	Presente	$4,0 \times 10^{-15}$	1088 (75,2)	$4,4 \times 10^{-9}$	1071 (74,0)
<b>Disciplina não violenta</b>	Presente	$8,2 \times 10^{-7}$	1344 (92,9)	$2,3 \times 10^{-7}$	1344 (92,9)
	1011 (69,9)	$1,1 \times 10^{-3}$	1344 (92,9)	$8,3 \times 10^{-4}$	1344 (92,9)
<b>Maus tratos não violentos</b>	Presente	$1,3 \times 10^{-13}$	1344 (92,9)	$1,0 \times 10^{-23}$	1344 (92,9)

Dados coletados no ano de 2005. Abreviações, CI: comportamento internalizante. CE: comportamento externalizante. SRQ-20: Self Report Questionnaire (teste que avalia o sofrimento mental do cuidador). \*existe sobreposição entre os valores de n para DCI e DCE

### APÊNDICE 3:

**Tabela 2.** Associação de imunofenótipos e sintomas de alterações de internalização ou externalização, na infância e adolescência.

Descrição	n (%)	<u>p valor (Teste <math>\chi^2</math>)</u>	
		Infância	
		CI	CE
Imunofenótipo	Pouco responsivo	194 (17,2)	
	Intermediário	129 (11,4)	$9 \times 10^{-2}$
	Responsivo	804 (71,3)	$2 \times 10^{-2}$

Abreviações, CI: comportamento internalizante. CE: comportamento externalizante.

### APÊNDICE 4:

**Tabela 3.** Associação entre as concentrações de citocinas IFN- $\gamma$ , IL-5, IL-10 e IL-13 e sintomas de alterações de internalização ou externalização, na infância e adolescência.

Citocina	<u>p valor (Teste U de Mann-Whitney)</u>			
	Infância			
	CI		CE	
	Medianas (IQRs)*	p	Medianas (IQRs)*	P
IFN- $\gamma$	281,25 (211,58 - 281,25)	$1,6 \times 10^{-1}$	281,25 (144,31 - 281,25)	$2 \times 10^{-2}$
IL-5	54,09 (0,005 - 164,75)	$1,7 \times 10^{-1}$	57,5 (0,005 - 150,56)	$1,8 \times 10^{-1}$
IL-10	468,75 (366,66 - 468,75)	$4,7 \times 10^{-2}$	468,87 (372,08 - 468,87)	$1,8 \times 10^{-2}$
IL-13	346,76 (76,12 - 772,4)	$2 \times 10^{-2}$	352,41 (30,43 - 810,96)	$1,5 \times 10^{-2}$

Abreviações, CI: comportamento internalizante. CE: comportamento externalizante. \*para os dados de medianas e quartis foram levados em consideração apenas os casos



## ANEXO 1:



## BIOMARKERS IN NEUROPSYCHIATRY

### AUTHOR INFORMATION PACK

#### TABLE OF

#### CONTENTS

- **Description** p.1
- **Abstracting and Indexing** p.1
- **Editorial Board** p.1
- **Guide for Authors** p.3



ISSN: 2666-1446

#### DESCRIPTION

Biomarkers in Neuropsychiatry is an international, peer-review, rapid-publication and open access journal published by Elsevier. It is dedicated to disseminating original data, systematic reviews and meta-analyses focusing on neurobiologic, therapeutic or prognostic biomarkers associated with all brain disorders, neurologic and/or psychiatric. The Journal will consider submissions related to a wide array of genetic, molecular, neuroimaging (MRI, MRS, fMRI and DTI), neurophysiological, neurochemical, endocrinological and immunological biomarkers, related to brain structure or function in all neuropsychiatric disorders. The Journal encourages interdisciplinary research collaboration across multiple scientific disciplines because that often facilitates the generation of breakthrough insights and novel biomarkers.

#### ABSTRACTING AND INDEXING

Embase  
Directory of Open Access Journals (DOAJ) Scopus

#### EDITORIAL BOARD

##### *Editor-in-Chief*

**Henry Nasrallah**, University of Cincinnati College of Medicine, Cincinnati, Ohio, United States of America  
Neurobiology of psychotic disorders, Neuropharmacology, Neurodegeneration, Neuroprotection, Neurotoxicity

##### *Senior Managing Editor*

**Amelia Nasrallah**, University of Cincinnati College of Medicine, Cincinnati, Ohio, United States of America  
Clinical trials design, Research methodology, Regulatory affairs

**Editorial Board Members**

**Schahram Akbarian**, Icahn School of Medicine at Mount Sinai, New York, New York, United States of America  
Pharmacogenomics, Neurobiology, Neuroglia

**Peter Buckley**, Virginia Commonwealth University School of Medicine, Richmond, Virginia, United States of America

Schizophrenia, Metabolic dysregulation, Comorbidities

**Tyrone Cannon**, Yale University, Department of Psychiatry, New Haven, Connecticut, United States of America

Psychosis, Schizophrenia, Cognitive neuroscience, Behavior genetics, Development, Memory systems

**Brett Clementz**, University of Georgia, Athens, Georgia, United States of America

Psychosis, Biomarkers, Classification, Electroencephalography, Magnetoencephalography, EEG, MEG, Saccades, Smooth pursuit

**Paola Dazzan**, King's College London Institute of Psychiatry Psychology and Neuroscience, London, United Kingdom

Neuroimaging, Neurotransmittersystems, Cortical connectivity

**Daniel C. Javitt**, Columbia University, New York, New York, United States of America

Glutamate system, NMDA receptor, Mismatch negativity

**Dilip Jeste**, University of California San Diego, La Jolla, California, United States of America

Schizophrenia, Neuropsychiatric interventions, Successful aging

**René Kahn**, Icahn School of Medicine at Mount Sinai, New York, New York, United States of America

Etiopathogenesis of the psychotic spectrum, Neuroimaging

**Matcheri Keshavan**, Beth Israel Deaconess Medical Center, Boston, Massachusetts, United States of America

Psychosis spectrum biomarkers, Cognitive remediation, Neuropathogenesis

**Rita Khoury**, Saint George Hospital University Medical Center, Department of Psychiatry and Clinical Psychology, Beirut, Lebanon

Dementia, Geriatric psychiatry, Biomarkers of Alzheimer's Disease

**John Mann**, Columbia University, Department of Psychiatry, New York, New York, United States of America

Neurobiology of suicide, Basic and clinical neuroscience of suicide

**Daniel Martins-de-Souza**, UNICAMP - University of Campinas, SAO PAULO, Brazil

Proteomics, Metabolomics, Mass spectrometry, Systems biology in silico, Schizophrenia, Depression, Neurobiology

**Patrick McGorry**, The University of Melbourne Centre for Youth Mental Health, Melbourne, Australia

Psychosis, Youth mental health, Mood disorders

**Brian J. Miller**, Augusta University Medical College of Georgia, Department of Psychiatry and Health Behavior, Augusta, Georgia, United States of America

Schizophrenia, Psychosis, Neuroimmunology, Neuropharmacology

**Diana Perkins**, The University of North Carolina at Chapel Hill, Chapel Hill, North Carolina, United States of America

At-risk state, First-episode psychosis, Genetic risk scores

**Mary L. Phillips**, University of Pittsburgh, Pittsburgh, Pennsylvania, United States of America

Neurophysiology, Neural circuitry, OCD, Impulsivity

**ANILKUMAR Pillai**, The University of Texas Health Science Center at Houston, Houston, Texas, United States of America

Mood disorders, Autism neurogenesis, BDNF, Stress models of psychopathology

**Akira Sawa**, Johns Hopkins University, Baltimore, Maryland, United States of America

Translational neuroscience

**Emily Severance**, Johns Hopkins University, Baltimore, Maryland, United States of America

Gut-brain axis, Microbiome, Immune system, Neuroinflammation, Autoimmunity

**Martha Shenton**, Harvard University Departments of Psychiatry and Radiology Psychiatry Neuroimaging Laboratory, Boston, Massachusetts, United States of America

Schizophrenia, MRI/Neuroimaging, Clinical High Risk For Schizophrenia, Early Psychosis, Mild Traumatic Brain Injury

**Jeffrey R. Strawn**, University of Cincinnati College of Medicine, Department of Psychiatry and Behavioral Neuroscience, Cincinnati, Ohio, United States of America

Neurobiology of anxiety disorders and ADHD

**John Sweeney**, University of Cincinnati College of Medicine, Department of Psychiatry and Behavioral Neuroscience, Cincinnati, Ohio, United States of America

Biomarkers of Psychosis, Psychopharmacology

**Neal Swerdlow**, University of California at San Diego, Department of Psychiatry, La Jolla, California, United States of America

Schizophrenia, Alzheimer's Disease, Biomarkers, Prepulse inhibition, Psychopharmacology

**Rajiv Tandon**, Western Michigan University, Department of Psychiatry, Kalamazoo, Michigan, United States of America

Schizophrenia, Neurobiology, Psychopharmacology, Nosology

**Florian P. Thomas**, Hackensack Meridian School of Medicine at Seton Hall University, Nutley, New Jersey, United States of America

Spinal cord medicine, Neuromuscular conditions, Neuroimmunology

**Daniel R. Weinberger**, Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, Maryland, United States of America

Behavior genetics, Schizophrenia, Bipolar disorder, Neuroscience

## GUIDE FOR AUTHORS

### AIMS AND SCOPE

Biomarkers in Neuropsychiatry is an international, peer-review, rapid-publication and open access journal published by Elsevier. It is dedicated to disseminating original data, systematic reviews and meta-analyses focusing on neurobiologic, therapeutic or prognostic biomarkers associated with all brain disorders, neurologic and/or psychiatric. The Journal will consider submissions related to a wide array of genetic, molecular, neuroimaging (MRI, MRS, fMRI and DTI), neurophysiological, neurochemical, endocrinological and immunological biomarkers, related to brain structure or function in all neuropsychiatric disorders.

The Journal encourages interdisciplinary research collaboration across multiple scientific disciplines because that often facilitates the generation of breakthrough insights and novel biomarkers.

### BEFORE YOU BEGIN

#### *Ethics in publishing*

Please see our information on [Ethics in publishing](#).

#### *Studies in humans and animals*

If the work involves the use of human subjects, the author should ensure that the work described has been carried out in accordance with [The Code of Ethics of the World Medical Association](#) (Declaration of Helsinki) for experiments involving humans. The manuscript should be in line with the [Recommendations for the Conduct, Reporting, Editing and Publication of Scholarly Work in Medical Journals](#) and aim for the inclusion of representative human populations (sex, age and ethnicity) as per those recommendations. The terms [sex](#) and [gender](#) should be used correctly.

Authors should include a statement in the manuscript that informed consent was obtained for experimentation with human subjects. The privacy rights of human subjects must always be observed.

All animal experiments should comply with the [ARRIVE guidelines](#) and should be carried out in accordance with the U.K. Animals (Scientific Procedures) Act, 1986 and associated guidelines, [EU Directive 2010/63/EU for animal experiments](#), or the National Research Council's [Guide for the Care and Use of Laboratory Animals](#) and the authors should clearly indicate in the manuscript that such guidelines have been followed. The sex of animals must be indicated, and where appropriate, the influence (or association) of sex on the results of the study.

#### *Declaration of competing interest*

All authors must disclose any financial and personal relationships with other people or organizations that could inappropriately influence (bias) their work. Examples of potential conflicts of interest include employment, consultancies, stock ownership, honoraria, paid expert testimony, patent applications/ registrations, and grants or other funding. Authors should complete the declaration of competing interest statement using [this template](#) and upload to the submission system at the

Attach/Upload Files step. **Note: Please do not convert the .docx template to another file type. Author signatures are not required.** If there are no interests to declare, please choose the first option in the template. [More information](#).

#### **Submission declaration and verification**

Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract, a published lecture or academic thesis, see '[Multiple, redundant or concurrent publication](#)' for more information), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, including electronically without the written consent of the copyright holder. To verify compliance, your article may be checked by [Crossref Similarity Check](#) and other originality or duplicate checking software.

#### **Preprint posting on SSRN**

In support of [Open Science](#), this journal offers its authors a free preprint posting service. Preprints provide early registration and dissemination of your research, which facilitates early citations and collaboration.

During submission to Editorial Manager, you can choose to release your manuscript publicly as a preprint on the preprint server [SSRN](#) once it enters peer-review with the journal. Your choice will have no effect on the editorial process or outcome with the journal. Please note that the corresponding author is expected to seek approval from all co-authors before agreeing to release the manuscript publicly on SSRN.

You will be notified via email when your preprint is posted online and a Digital Object Identifier (DOI) is assigned. Your preprint will remain globally available free to read whether the journal accepts or rejects your manuscript.

For more information about posting to [SSRN](#), please consult the [SSRN Terms of Use](#) and [FAQs](#).

#### **Use of inclusive language**

Inclusive language acknowledges diversity, conveys respect to all people, is sensitive to differences, and promotes equal opportunities. Content should make no assumptions about the beliefs or commitments of any reader; contain nothing which might imply that one individual is superior to another on the grounds of age, gender, race, ethnicity, culture, sexual orientation, disability or health condition; and use inclusive language throughout. Authors should ensure that writing is free from bias, stereotypes, slang, reference to dominant culture and/or cultural assumptions. We advise to seek gender neutrality by using plural nouns ("clinicians, patients/clients") as default/wherever possible to avoid using "he, she," or "he/she." We recommend avoiding the use of descriptors that refer to personal attributes such as age, gender, race, ethnicity, culture, sexual orientation, disability or health condition unless they are relevant and valid. When coding terminology is used, we recommend to avoid offensive or exclusionary terms such as "master", "slave", "blacklist" and "whitelist". We suggest using alternatives that are more appropriate and (self-) explanatory such as "primary", "secondary", "blocklist" and "allowlist". These guidelines are meant as a point of reference to help identify appropriate language but are by no means exhaustive or definitive.

#### **Article transfer service**

This journal uses the Elsevier Article Transfer Service to find the best home for your manuscript. This means that if an editor feels your manuscript is more suitable for an alternative journal, you might be asked to consider transferring the manuscript to such a journal. The recommendation might be provided by a Journal Editor, a dedicated [Scientific Managing Editor](#), a tool assisted recommendation, or a combination. If you agree, your manuscript will be transferred, though you will have the opportunity to make changes to the manuscript before the submission is complete. Please note that your manuscript will be independently reviewed by the new journal. [More information](#).

#### **Copyright**

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'License Agreement' (see [more information](#) on this). Permitted third party reuse of open access articles is determined by the author's choice of [user license](#).

**Author rights**

As an author you (or your employer or institution) have certain rights to reuse your work. [More information](#).

*Elsevier supports responsible sharing*

Find out how you can [share your research](#) published in Elsevier journals.

**Role of the funding source**

You are requested to identify who provided financial support for the conduct of the research and/or preparation of the article and to briefly describe the role of the sponsor(s), if any, in study design; in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the report; and in the decision to submit the article for publication. If the funding source(s) had no such involvement, it is recommended to state this.

**Open access**

Please visit our [Open Access page](#) for more information.

*Elsevier Researcher Academy*

[Researcher Academy](#) is a free e-learning platform designed to support early and mid-career researchers throughout their research journey. The "Learn" environment at Researcher Academy offers several interactive modules, webinars, downloadable guides and resources to guide you through the process of writing for research and going through peer review. Feel free to use these free resources to improve your submission and navigate the publication process with ease.

*Language (usage and editing services)*

Please write your text in good English (American or British usage is accepted, but not a mixture of these). Authors who feel their English language manuscript may require editing to eliminate possible grammatical or spelling errors and to conform to correct scientific English may wish to use the [English Language Editing service](#) available from Elsevier's Author Services.

**Submission**

Our online submission system guides you stepwise through the process of entering your article details and uploading your files. The system converts your article files to a single PDF file used in the peer-review process. Editable files (e.g., Word, LaTeX) are required to typeset your article for final publication. All correspondence, including notification of the Editor's decision and requests for revision, is sent by e-mail.

**PREPARATION****Queries**

For questions about the editorial process (including the status of manuscripts under review) or for technical support on submissions, please visit our [Support Center](#).

**Peer review**

This journal operates a single anonymized review process. All contributions will be initially assessed by the editor for suitability for the journal. Papers deemed suitable are then typically sent to a minimum of two independent expert reviewers to assess the scientific quality of the paper. The Editor is responsible for the final decision regarding acceptance or rejection of articles. The Editor's decision is final. Editors are not involved in decisions about papers which they have written themselves or have been written by family members or colleagues or which relate to products or services in which the editor has an interest. Any such submission is subject to all of the journal's usual procedures, with peer review handled independently of the relevant editor and their research groups. [More information on types of peer review](#).

*Use of word processing software*

It is important that the file be saved in the native format of the word processor used. The text should be in single-column format. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. In particular, do not use the word processor's options to justify text or to hyphenate words. However, do use bold face, italics, subscripts, superscripts etc. When preparing tables, if you are using a table grid, use only one grid for each individual table and not a grid for each row. If no grid is used, use tabs, not spaces, to align columns.

The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts (see also the [Guide to Publishing with Elsevier](#)). Note that source files of figures, tables and text graphics will be required whether or not you embed your figures in the text. See also the section on Electronic artwork.

To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the 'spell-check' and 'grammar-check' functions of your word processor.

### Article structure

#### Subdivision - unnumbered sections

Divide your article into clearly defined sections. Each subsection is given a brief heading. Each heading should appear on its own separate line. Subsections should be used as much as possible when crossreferencing text: refer to the subsection by heading as opposed to simply 'the text'.

#### Introduction

State the objectives of the work and provide an adequate background, avoiding a detailed literature survey or a summary of the results.

#### Material and methods

Provide sufficient details to allow the work to be reproduced by an independent researcher. Methods that are already published should be summarized, and indicated by a reference. If quoting directly from a previously published method, use quotation marks and also cite the source. Any modifications to existing methods should also be described.

#### Results

Results should be clear and concise.

#### Discussion

This should explore the significance of the results of the work, not repeat them. A combined Results and Discussion section is often appropriate. Avoid extensive citations and discussion of published literature.

#### Conclusions

The main conclusions of the study may be presented in a short Conclusions section, which may stand alone or form a subsection of a Discussion or Results and Discussion section.

#### Appendices

If there is more than one appendix, they should be identified as A, B, etc. Formulae and equations in appendices should be given separate numbering: Eq. (A.1), Eq. (A.2), etc.; in a subsequent appendix, Eq. (B.1) and so on. Similarly for tables and figures: Table A.1; Fig. A.1, etc.

### Essential title page information

- **Title.** Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.
- **Author names and affiliations.** Please clearly indicate the given name(s) and family name(s) of each author and check that all names are accurately spelled. You can add your name between parentheses in your own script behind the English transliteration. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lowercase superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.
- **Corresponding author.** Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. This responsibility includes answering any future queries about Methodology and Materials. **Ensure that the e-mail address is given and that contact details are kept up to date by the corresponding author.**
- **Present/permanent address.** If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

### Highlights

Highlights are optional yet highly encouraged for this journal, as they increase the discoverability of your article via search engines. They consist of a short collection of bullet points that capture the novel results of your research as well as new methods that were used during the study (if any). Please have a look at the examples here: [example Highlights](#).

Highlights should be submitted in a separate editable file in the online submission system. Please use 'Highlights' in the file name and include 3 to 5 bullet points (maximum 85 characters, including spaces, per bullet point).

### Graphical abstract

Although a graphical abstract is optional, its use is encouraged as it draws more attention to the online article. The graphical abstract should summarize the contents of the article in a concise, pictorial form designed to capture the attention of a wide readership. Graphical abstracts should be submitted as a separate file in the online submission system. Image size: Please provide an image with a minimum of 531 × 1328 pixels (h × w) or proportionally more. The image should be readable at a size of 5 × 13 cm using a regular screen resolution of 96 dpi. Preferred file types: TIFF, EPS, PDF or MS Office files. You can view [Example Graphical Abstracts](#) on our information site.

### Acknowledgements

Collate acknowledgements in a separate section at the end of the article before the references and do not, therefore, include them on the title page, as a footnote to the title or otherwise. List here those individuals who provided help during the research (e.g., providing language help, writing assistance or proof reading the article, etc.).

### Formatting of funding sources

List funding sources in this standard way to facilitate compliance to funder's requirements:

Funding: This work was supported by the National Institutes of Health [grant numbers xxxx, yyyy]; the Bill & Melinda Gates Foundation, Seattle, WA [grant number zzzz]; and the United States Institutes of Peace [grant number aaaa].

It is not necessary to include detailed descriptions on the program or type of grants and awards. When funding is from a block grant or other resources available to a university, college, or other research institution, submit the name of the institute or organization that provided the funding.

If no funding has been provided for the research, it is recommended to include the following sentence:

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

### Units

Follow internationally accepted rules and conventions: use the international system of units (SI). If other units are mentioned, please give their equivalent in SI.

### Footnotes

Footnotes should be used sparingly. Number them consecutively throughout the article. Many word processors can build footnotes into the text, and this feature may be used. Otherwise, please indicate the position of footnotes in the text and list the footnotes themselves separately at the end of the article. Do not include footnotes in the Reference list.

### Artwork

#### Electronic artwork General points

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
- Embed the used fonts if the application provides that option.
- Aim to use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Times New Roman, Symbol, or use fonts that look similar.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Provide captions to illustrations separately.

- Size the illustrations close to the desired dimensions of the published version.
- Submit each illustration as a separate file.
- Ensure that color images are accessible to all, including those with impaired color vision.

A detailed [guide on electronic artwork](#) is available.

**You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.** *Formats*

If your electronic artwork is created in a Microsoft Office application (Word, PowerPoint, Excel) then please supply 'as is' in the native document format.

Regardless of the application used other than Microsoft Office, when your electronic artwork is finalized, please 'Save as' or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below):

EPS (or PDF): Vector drawings, embed all used fonts.

TIFF (or JPEG): Color or grayscale photographs (halftones), keep to a minimum of 300 dpi.

TIFF (or JPEG): Bitmapped (pure black & white pixels) line drawings, keep to a minimum of 1000 dpi.

TIFF (or JPEG): Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale), keep to a minimum of 500 dpi.

**Please do not:**

- Supply files that are optimized for screen use (e.g., GIF, BMP, PICT, WPG); these typically have low number of pixels and limited set of colors;
- Supply files that are too low in resolution;
- Submit graphics that are disproportionately large for the content.

*Color artwork*

Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF (or JPEG), EPS (or PDF) or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color online (e.g., ScienceDirect and other sites) in addition to color reproduction in print. [Further information on the preparation of electronic artwork.](#)

*Figure captions*

Ensure that each illustration has a caption. Supply captions separately, not attached to the figure. A caption should comprise a brief title (**not** on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

**Tables**

Please submit tables as editable text and not as images. Tables can be placed either next to the relevant text in the article, or on separate page(s) at the end. Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text and place any table notes below the table body. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in them do not duplicate results described elsewhere in the article. Please avoid using vertical rules and shading in table cells.

**References**

*Citation in text*

Please ensure that every reference cited in the text is also present in the reference list (and vice versa). Any references cited in the abstract must be given in full. Unpublished results and personal communications are not recommended in the reference list, but may be mentioned in the text. If these references are included in the reference list they should follow the standard reference style of the journal and should include a substitution of the publication date with either 'Unpublished results' or 'Personal communication'. Citation of a reference as 'in press' implies that the item has been accepted for publication.

*Reference links*

Increased discoverability of research and high quality peer review are ensured by online links to the sources cited. In order to allow us to create links to abstracting and indexing services, such as Scopus, Crossref and PubMed, please ensure that data provided in the references are correct. Please note that incorrect surnames, journal/book titles, publication year and pagination may prevent link



creation. When copying references, please be careful as they may already contain errors. Use of the DOI is highly encouraged.

A DOI is guaranteed never to change, so you can use it as a permanent link to any electronic article. An example of a citation using DOI for an article not yet in an issue is: VanDecar J.C., Russo R.M., James D.E., Ambeh W.B., Franke M. (2003). Aseismic continuation of the Lesser Antilles slab beneath northeastern Venezuela. *Journal of Geophysical Research*, <https://doi.org/10.1029/2001JB000884>. Please note the format of such citations should be in the same style as all other references in the paper.

#### *Web references*

As a minimum, the full URL should be given and the date when the reference was last accessed. Any further information, if known (DOI, author names, dates, reference to a source publication, etc.), should also be given. Web references can be listed separately (e.g., after the reference list) under a different heading if desired, or can be included in the reference list.

#### *Data references*

This journal encourages you to cite underlying or relevant datasets in your manuscript by citing them in your text and including a data reference in your Reference List. Data references should include the following elements: author name(s), dataset title, data repository, version (where available), year, and global persistent identifier. Add [dataset] immediately before the reference so we can properly identify it as a data reference. The [dataset] identifier will not appear in your published article.

#### *Preprint references*

Where a preprint has subsequently become available as a peer-reviewed publication, the formal publication should be used as the reference. If there are preprints that are central to your work or that cover crucial developments in the topic, but are not yet formally published, these may be referenced. Preprints should be clearly marked as such, for example by including the word preprint, or the name of the preprint server, as part of the reference. The preprint DOI should also be provided.

#### *References in a special issue*

Please ensure that the words 'this issue' are added to any references in the list (and any citations in the text) to other articles in the same Special Issue.

#### *Reference management software*

Most Elsevier journals have their reference template available in many of the most popular reference management software products. These include all products that support [Citation Style Language styles](#), such as [Mendeley](#). Using citation plug-ins from these products, authors only need to select the appropriate journal template when preparing their article, after which citations and bibliographies will be automatically formatted in the journal's style. If no template is yet available for this journal, please follow the format of the sample references and citations as shown in this Guide. If you use reference management software, please ensure that you remove all field codes before submitting the electronic manuscript. [More information on how to remove field codes from different reference management software.](#)

#### *Reference style*

*Text:* Citations in the text should follow the referencing style used by the American Psychological Association. You are referred to the Publication Manual of the American Psychological Association, Seventh Edition, ISBN 978-1-4338-3215-4, copies of which may be [ordered online](#).

*List:* references should be arranged first alphabetically and then further sorted chronologically if necessary. More than one reference from the same author(s) in the same year must be identified by the letters 'a', 'b', 'c', etc., placed after the year of publication.

#### *Examples:*

Reference to a journal publication:

Van der Geer, J., Hanraads, J. A. J., & Lupton, R. A. (2010). The art of writing a scientific article. *Journal of Scientific Communications*, *163*, 51–59. <https://doi.org/10.1016/j.sc.2010.00372>.

Reference to a journal publication with an article number:

Van der Geer, J., Hanraads, J. A. J., & Lupton, R. A. (2018). The art of writing a scientific article. *Heliyon*, *19*, Article e00205. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2018.e00205>.

Reference to a book:

Strunk, W., Jr., & White, E. B. (2000). *The elements of style* (4th ed.). Longman (Chapter 4).

Reference to a chapter in an edited book:

Mettam, G. R., & Adams, L. B. (2009). How to prepare an electronic version of your article. In B. S. Jones, & R. Z. Smith (Eds.), *Introduction to the electronic age* (pp. 281–304). E-Publishing Inc.

Reference to a website:

Powertech Systems. (2015). *Lithium-ion vs lead-acid cost analysis*. Retrieved from <http://www.powertechsystems.eu/home/tech-corner/lithium-ion-vs-lead-acid-cost-analysis/>.

Accessed January 6, 2016 Reference to a dataset:

[dataset] Oguro, M., Imahiro, S., Saito, S., & Nakashizuka, T. (2015). *Mortality data for Japanese oak wilt disease and surrounding forest compositions*. Mendeley Data, v1. <https://doi.org/10.17632/xwj98nb39r.1>.

Reference to a conference paper or poster presentation:

Engle, E.K., Cash, T.F., & Jarry, J.L. (2009, November). *The Body Image Behaviours Inventory-3: Development and validation of the Body Image Compulsive Actions and Body Image Avoidance Scales*. Poster session presentation at the meeting of the Association for Behavioural and Cognitive Therapies, New York, NY.

Reference to software:

Coon, E., Berndt, M., Jan, A., Svyatsky, D., Atchley, A., Kikinon, E., Harp, D., Manzini, G., Shelef, E., Lipnikov, K., Garimella, R., Xu, C., Moulton, D., Karra, S., Painter, S., Jafarov, E., & Molins, S. (2020, March 25). *Advanced Terrestrial Simulator (ATS) v0.88 (Version 0.88)*. Zenodo. <https://doi.org/10.5281/zenodo.3727209>.

### Video

Elsevier accepts video material and animation sequences to support and enhance your scientific research. Authors who have video or animation files that they wish to submit with their article are strongly encouraged to include links to these within the body of the article. This can be done in the same way as a figure or table by referring to the video or animation content and noting in the body text where it should be placed. All submitted files should be properly labeled so that they directly relate to the video file's content. In order to ensure that your video or animation material is directly usable, please provide the file in one of our recommended file formats with a preferred maximum size of 150 MB per file, 1 GB in total. Video and animation files supplied will be published online in the electronic version of your article in Elsevier Web products, including [ScienceDirect](#). Please supply 'stills' with your files: you can choose any frame from the video or animation or make a separate image. These will be used instead of standard icons and will personalize the link to your video data. For more detailed instructions please visit our [video instruction pages](#). Note: since video and animation cannot be embedded in the print version of the journal, please provide text for both the electronic and the print version for the portions of the article that refer to this content.

### Data visualization

Include interactive data visualizations in your publication and let your readers interact and engage more closely with your research. Follow the instructions [here](#) to find out about available data visualization options and how to include them with your article.

### Supplementary material

Supplementary material such as applications, images and sound clips, can be published with your article to enhance it. Submitted supplementary items are published exactly as they are received (Excel or PowerPoint files will appear as such online). Please submit your material together with the article and supply a concise, descriptive caption for each supplementary file. If you wish to make changes to supplementary material during any stage of the process, please make sure to provide an updated file. Do not annotate any corrections on a previous version. Please switch off the 'Track Changes' option in Microsoft Office files as these will appear in the published version.

### Research data

This journal encourages and enables you to share data that supports your research publication where appropriate, and enables you to interlink the data with your published articles. Research data refers to the results of observations or experimentation that validate research findings. To facilitate reproducibility and data reuse, this journal also encourages you to share your software, code, models, algorithms, protocols, methods and other useful materials related to the project.

Below are a number of ways in which you can associate data with your article or make a statement about the availability of your data when submitting your manuscript. If you are sharing data in one of these ways, you are encouraged to cite the data in your manuscript and reference list. Please refer to the "References" section for more information about data citation. For more information on depositing, sharing and using research data and other relevant research materials, visit the [research data](#) page.

#### *Data linking*

If you have made your research data available in a data repository, you can link your article directly to the dataset. Elsevier collaborates with a number of repositories to link articles on ScienceDirect with relevant repositories, giving readers access to underlying data that gives them a better understanding of the research described.

There are different ways to link your datasets to your article. When available, you can directly link your dataset to your article by providing the relevant information in the submission system. For more information, visit the [database linking page](#).

For [supported data repositories](#) a repository banner will automatically appear next to your published article on ScienceDirect.

In addition, you can link to relevant data or entities through identifiers within the text of your manuscript, using the following format: Database: xxxx (e.g., TAIR: AT1G01020; CCDC: 734053; PDB: 1XFN).

#### **Research Elements**

This journal enables you to publish research objects related to your original research – such as data, methods, protocols, software and hardware – as an additional paper in Research Elements.

Research Elements is a suite of peer-reviewed, open access journals which make your research objects findable, accessible and reusable. Articles place research objects into context by providing detailed descriptions of objects and their application, and linking to the associated original research articles. Research Elements articles can be prepared by you, or by one of your collaborators.

During submission, you will be alerted to the opportunity to prepare and submit a Research Elements article.

More information can be found on the [Research Elements page](#).

#### *Data statement*

To foster transparency, we encourage you to state the availability of your data in your submission. This may be a requirement of your funding body or institution. If your data is unavailable to access or unsuitable to post, you will have the opportunity to indicate why during the submission process, for example by stating that the research data is confidential. The statement will appear with your published article on ScienceDirect. For more information, visit the [Data Statement page](#).

#### *Rejection of Manuscripts*

Biomarkers in Neuropsychiatry is able to accept a relatively small percentage of submissions received. Therefore, many good manuscripts are declined, oftentimes despite favorable peer reviews. If your paper is rejected but the reviews are accurate, please do not appeal the decision and request additional reviews. Doing so distracts the journal's editors and reviewers from evaluating submissions and editorial staff from processing other manuscripts and is unfair to the authors of those papers. If, however, the reviewer or editor assessments are reconsidered, the Editor-in-Chief will entertain an appeal and reopen the manuscript's file.

Any appeal must be made by the corresponding author to the Editorial Office by email prior to resubmitting the manuscript. Please do not resubmit a revised version of a rejected manuscript without an appeal to the Editorial office. Please do not resubmit until your original manuscript is released back to you. By waiting for the manuscript release, it ensures that your paper is processed under the same manuscript number, keeping the manuscript history intact.

## AFTER ACCEPTANCE

### *Online proof correction*

To ensure a fast publication process of the article, we kindly ask authors to provide us with their proof corrections within two days. Corresponding authors will receive an e-mail with a link to our online proofing system, allowing annotation and correction of proofs online. The environment is similar to MS Word: in addition to editing text, you can also comment on figures/tables and answer questions from the Copy Editor. Web-based proofing provides a faster and less error-prone process by allowing you to directly type your corrections, eliminating the potential introduction of errors.

If preferred, you can still choose to annotate and upload your edits on the PDF version. All instructions for proofing will be given in the e-mail we send to authors, including alternative methods to the online version and PDF.

We will do everything possible to get your article published quickly and accurately. Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission from the Editor. It is important to ensure that all corrections are sent back to us in one communication. Please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility.

### *Offprints*

The corresponding author will, at no cost, receive a customized [Share Link](#) providing 50 days free access to the final published version of the article on [ScienceDirect](#). The Share Link can be used for sharing the article via any communication channel, including email and social media. For an extra charge, paper offprints can be ordered via the offprint order form which is sent once the article is accepted for publication. Both corresponding and co-authors may order offprints at any time via Elsevier's [Author Services](#). Corresponding authors who have published their article gold open access do not receive a Share Link as their final published version of the article is available open access on ScienceDirect and can be shared through the article DOI link.

## AUTHOR\_INQUIRIES

Kindly contact our editorial office managed by Amelia Nasrallah [amelia.nasrallah@uc.edu](mailto:amelia.nasrallah@uc.edu) or visit the Elsevier Support Center to find the answers you need. Here you will find everything from Frequently Asked Questions to ways to get in touch. You can also check the status of your submitted article or find out when your accepted article will be published.

© Copyright 2018 Elsevier | <https://www.elsevier.com>