

UNIVERSIDADE CATÓLICA DE PELOTAS

KAREN AMARAL TAVARES PINHEIRO

**Transtornos do humor no período gravídico-puerperal e suas
repercussões neurobiológicas e psicológicas na
vida de mulheres e seus bebês**

Pelotas

2011

KAREN AMARAL TAVARES PINHEIRO

**Transtornos do humor no período gravídico-puerperal e suas
repercussões neurobiológicas e psicológicas na
vida de mulheres e seus bebês**

Tese apresentada ao Programa de Pós Graduação
em Saúde e Comportamento da Universidade
Católica de Pelotas, como requisito parcial para a
obtenção do grau de Doutor em Saúde e
Comportamento

Orientador: Jean Pierre Oses

Co-orientador: Ricardo Tavares Pinheiro

Pelotas

2011

**Transtornos do humor no período gravídico-puerperal e suas
repercussões neurobiológicas e psicológicas na
vida de mulheres e seus bebês**

Banca Examinadora

Presidente e Orientador: Prof. Dr. Jean Pierre Oses

1º Examinador: Prof. Dr. Álvaro Petracco

2º Examinador: Prof. Dr. Carlos Alberto Saraiva Gonçalves

3º Examinador: Prof. Dr. Alfredo Cardoso Lhullier

4º Examinador: Prof. Dr. Ricardo Azevedo da Silva

Pelotas, 25 de fevereiro de 2011

Dedico este trabalho aos meus filhos amados Isabel e Felipe, razão da minha existência, que durante a realização desta tese suportaram a minha ausência e torceram muito para que enfim pudesse ser concluída.

À Luisa, minha querida enteada, agradeço ter podido com ela começar a aprender a difícil tarefa de ser mãe.

Ao Ricardo, meu mais fiel e amado companheiro de todas as horas, mas também meu crítico mais ferrenho. Sem ele este volume não estaria finalizado neste momento. Sua parceria foi vital: estimulando-me e encorajando-me nas horas em que eu acreditava não mais ser capaz de concluir; criticando duramente quando eu pensava que já era o suficiente, mas não o melhor que eu poderia realizar; fazendo-me acreditar que tudo daria certo quando já não tinha mais ânimo para seguir em frente e concluir em um período tão curto realizando tantas outras atividades paralelamente. Ricardo, muito, muito obrigada.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Jean Pierre Oses que sempre me incentivou por mais loucas que pudessem ser as minhas ideias, permitindo que meu crescimento científico se fizesse de forma livre porém rigorosa.

Ao amigo Ricardo Azevedo da Silva por ter proporcionado que eu, enquanto graduanda, participasse de sua pesquisa de doutorado, iniciando assim o meu percurso científico, semeando em mim o gosto pela descoberta, e que durante todos os anos seguintes até o presente tem contribuído para que hoje eu conclua essa etapa.

Aos amigos Myriam Siqueira da Cunha e Sandro Schreiber de Oliveira que sempre acreditaram e apostaram em mim.

À amiga Flavia Braga Jonas sempre pronta a colaborar com qualquer coisa, por mais impossível que fosse.

Aos meus colegas e amigos Luciana Quevedo, Fabio Coelho, Karen Jansen e Luciano Mattos de Souza que contribuíram com críticas enriquecedoras.

Ao professor Walmor Portela que em muito contribuiu para uma reflexão crítica e científica da produção aqui apresentada.

Aos meus colegas professores da Disciplina de Morfofisiologia Humana que me acompanharam no último período da realização desta tese.

Aos bolsistas que trabalharam exaustivamente no trabalho de campo, digitação e codificação dos dados, sem os quais esse trabalho não seria possível.

À secretaria do Programa de Pós Graduação em Saúde e Comportamento Roberta Canez sempre disposta a colaborar.

Aos órgãos financiadores deste estudo CNPq e FAPERGS por terem acreditado que a realização deste projeto era possível.

Às mães e bebês que aceitaram participar deste estudo e com isso contribuíram de forma indispensável para que pudéssemos chegar a esses resultados.

Ao doutor José Luiz Meurer por ter me acompanhado neste período tão importante e desafiador da minha vida.

A minha tia Gagá por estar a qualquer hora sempre disposta em me ajudar em o que quer que fosse.

A toda a minha família, mãe Márcia, e especialmente meu pai Luiz Antônio, que desde sempre foi minha figura de identificação de busca pelo conhecimento científico e meu grande incentivador.

A ciência, seja qual for, necessita de imaginação. Então, frequentemente essa imaginação é alimentada pelo nosso imaginário, não podemos separar. Não existe uma ciência fria e pura, unicamente lógica. A ciência inclui as paixões, as emoções e também o imaginário.

Edgar Morin

ÍNDICE

INTRODUÇÃO GERAL	09
PARTE I – PROJETO	
I. IDENTIFICAÇÃO	11
1.1 TÍTULO	11
1.2 DOUTORANDA	11
1.3 ORIENTADOR	11
1.4 CO-ORIENTADOR	11
1.5 INSTITUIÇÃO	11
1.6 LINHA DE PESQUISA	11
1.7 DATA	11
II. DELIMITAÇÃO DO PROBLEMA.....	12
2.1 INTRODUÇÃO	12
2.2 OBJETIVOS	13
2.3 HIPÓTESES	14
III. REVISÃO DE LITERATURA	16
3.1 ESTRATÉGIAS DE BUSCA.....	20
IV. MÉTODOS	21
4.1 DELINEAMENTO	21
4.2 AMOSTRA	21
4.3 INSTRUMENTOS	22
4.4 DEFINIÇÃO DAS VARIÁVEIS	25
4.5 PESSOAL ENVOLVIDO	27
4.6 ESTUDO PILOTO	27
4.7 LOGÍSTICA	27
4.8 CONTROLE DE QUALIDADE	29
4.9 PROCESSAMENTO E ANÁLISE DE DADOS	29
4.10 DIVULGAÇÃO DOS RESULTADOS.....	30
4.11 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS	30
4.12 CRONOGRAMA	31
4.13 ORÇAMENTO	31
V. REFERÊNCIAS	32
VI. ANEXOS	37
6.1 MINI INTERNATIONAL NEUROPSYCHIATRIC INTERVIEW (MINI).....	38
6.2 EDINBURGH POSTNATAL DEPRESSION SCALE (EPDS) .	66
6.3 ALBERTA INFANT MOTOR SCALE (AIMS)	69
6.4 QUESTIONÁRIO DE CAPTAÇÃO.....	76
6.5 QUESTIONÁRIO MÃE PÓS-PARTO	78
6.6 QUESTIONÁRIO COLETA DE SANGUE	92
6.7 QUESTIONÁRIO SOBRE BEBÊ (12 MESES).....	95

6.8 CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.....	99
6.9 ENCAMINHAMENTOS	101

PARTE II – ARTIGOS

1º ARTIGO – BDNF LEVELS IN WOMEN WITH POSTPARTUM AFFECTIVE DISORDER AND SUICIDALITY	103
ABSTRACT	103
SIGNIFICANT OUTCOMES	104
LIMITATIONS.....	104
INTRODUCTION	105
MATERIAL AND METHODS.....	106
RESULTS	108
DISCUSSION.....	110
REFERENCES	113
2º ARTIGO – SERUM NGF, BDNF AND il-6 IN POST-PARTUM MOTHERS AS PREDICTORS OF INFANT NEURIBIOLOGICAL DEVELOPMENT: THE INFLUENCE OF AFFECTIVE	120
ABSTRACT	120
INTRODUCTION	122
METHODS	123
RESULTS	127
DISCUSSION.....	129
REFERENCES	133
3º ARTIGO – CHRONICITY AND SEVERITY OF MATERNAL POSTPARTUM DEPRESSION AND INFANT SLEEP DISORDERS: A POPULATION-BASED COHORT STUDY IN SOUTHERN BRAZIL	140
ABSTRACT	141
INTRODUCTION	142
METHODS	142
RESULTS	144
DISCUSSION.....	145
REFERENCES	147

PARTE III – CONSIDERAÇÕES FINAIS	150
---	------------

INTRODUÇÃO GERAL

Diversas alterações têm sido propostas como possíveis candidatas na patofisiologia dos transtornos do humor. Estudos recentes sugerem que os transtornos do humor sejam caracterizados como uma desordem multifatorial que compreende alterações nos circuitos cerebrais, envolvendo múltiplos fatores neurotróficos, citocinas, heterogeneidade genética, aspectos psicológicos, fatores estressores no decorrer do desenvolvimento. A busca por uma via compreensiva comum tem sido de grande interesse na pesquisa desta categoria nosológica em qualquer momento da vida. O período gravídico-puerperal encerra em si características peculiares desta etapa da vida, que por um sistema complexo, sobre o qual se busca melhor compreender, pode ser acompanhado por sofrimento mental materno, que não apenas traz alterações para as mulheres, mas em grande intensidade aos seus filhos.

Este trabalho foi elaborado como requisito para obtenção do grau de doutor em Saúde e Comportamento na Universidade Católica de Pelotas e está dividido em três partes: projeto de pesquisa, intitulado “Transtornos do humor no período gravídico-puerperal e suas repercussões neurobiológicas e psicológicas na vida de mulheres e seus bebês”; artigos desenvolvidos no decorrer do curso de doutorado; e considerações finais.

A primeira parte, o projeto, está subdividida em delimitação do problema que o trabalho enfoca; revisão de literatura, a qual busca situar o leitor diante do tema através da revisão de literatura científica sobre os transtornos do humor no período gravídico-puerperal e suas repercussões na vida da mulher e de seu bebê; metodologia, que descreve os procedimentos empregados na realização do estudo; e, em anexo, os instrumentos utilizados para mensurar as variáveis do trabalho.

A segunda parte do volume contém os seguintes artigos: “BDNF levels in women with postpartum affective disorder and suicidality” submetido ao periódico *Acta Psychiatrica*

Scandinavica; “Serum NGF, BDNF and IL-6 levels in postpartum mothers as predictors on infant neurobiological development: the influence of affective disorders”, a ser submetido ao periódico Biological Psychiatry e “Chronicity and severity of maternal postpartum depression and infant sleep disorders: A population-based cohort study in southern Brazil” publicado no periódico Infant Behavior.

A terceira parte apresenta considerações finais que remetem às hipóteses levantadas no projeto, levando em conta os resultados obtidos, assim como apresenta reflexões e uma síntese sobre o presente trabalho.

PARTE I – PROJETO

I. IDENTIFICAÇÃO

1.1. Título

Transtornos do humor no período gravídico-puerperal e suas repercussões neurobiológicas e psicológicas na vida de mulheres e seus bebês

1.2. Doutoranda

Karen Amaral Tavares Pinheiro

1.3. Orientador

Jean Pierre Oses

1.4. Co-orientador

Ricardo Tavares Pinheiro

1.5. Instituição

Programa de Pós Graduação em Saúde e Comportamento, Centro de Ciências da Vida e da Saúde, Universidade Católica de Pelotas

1.6. Linha de Pesquisa

Depressão Pós-parto

1.7. Data

Novembro de 2008

II. DELIMITAÇÃO DO PROBLEMA

2.1. Introdução

Os transtornos do humor encontram-se entre as doenças mentais de maior prevalência^{1,2}. Considerando-se que sua prevalência no período gravídico-puerperal é igualmente elevada e determina alterações não apenas para a mãe, mas para o desenvolvimento adequado do bebê, diversos estudos têm atentado para esse tema objetivando um melhor conhecimento do assunto e buscando formas de prevenção^{3,1}.

Estudos têm apontado para a associação entre o início dos transtornos do humor a partir da experiência de eventos de vida estressantes, em sujeitos suscetíveis geneticamente⁴. O período gravídico-puerperal pode ser entendido como um momento com diversos eventos estressores, capaz de desencadear um transtorno do humor nas mulheres. Estudo realizado na Austrália detectou que 20% das mães apresentam angústia em meados da gestação, na mesma direção um estudo conduzido na com mães na Noruega mostrou que 37% relataram desconforto psicológico após o parto⁵.

Diante da preocupação com as possíveis repercussões dos transtornos do humor, diversos estudos têm buscado encontrar marcadores biológicos tais como fatores: tróficos moleculares, citocinas e hormônios que possam traduzir os efeitos de eventos adversos nas mudanças funcionais dos diversos processos cerebrais envolvidos na gênese dos mesmos com a finalidade de melhor compreender seus processos e diagnosticá-los adequadamente^{6,7,8,9}.

Além disso, quando não diagnosticados e tratados adequadamente os transtornos do humor podem agravar-se culminando com tentativas de suicídio¹⁰. Quando a tentativa é bem sucedida determina não apenas prejuízos pessoais, mas, neste caso, também para o bebê, que perde a figura materna. As repercussões para a criança, entretanto, não são observadas apenas

nos casos em que o suicídio é realizado, mas também naquelas situações em que as mães que padecem de transtornos do humor apresentam-no de forma grave e crônica¹¹. Nesta situação há um menor envolvimento da mãe com seu filho o que determina prejuízos no desenvolvimento neurobiológico satisfatório do mesmo^{12,13}.

O presente trabalho objetiva investigar transtornos do humor durante o período gravídico-puerperal em mulheres e suas repercussões neurobiológicas e psicológicas na vida das próprias mulheres e seus bebês.

2.2. Objetivos

- Verificar a prevalência de transtornos do humor (episódios depressivos, maníacos e mistos) em mulheres no período gravídico-puerperal;
- Verificar a associação entre transtornos do humor no período pós-parto e risco de suicídio;
- Avaliar a existência de menores níveis de BDNF em mulheres no período pós-parto com transtornos de humor;
- Analisar os níveis de BDNF, NGF, IL-6 e cortisol em mulheres no período pós-parto com transtornos do humor e risco de suicídio;
- Verificar a associação entre a ocorrência de eventos de vida estressores, transtornos do humor e risco de suicídio;
- Avaliar a associação entre exposição a eventos de vida estressores e níveis mais baixos de BDNF em mulheres no pós-parto;
- Verificar o impacto de transtornos do humor maternos no desenvolvimento neurobiológico de seus bebês;
- Analisar se os níveis de BDNF, NGF, IL-6 e cortisol estão associados à presença de desenvolvimento motor inadequado;

- Verificar a prevalência de problemas de sono em bebês aos doze meses de vida;
- Avaliar se os transtornos de humor maternos prejudicam o desenvolvimento adequado dos bebês desencadeando desordens de sono.

2.3. Hipóteses

I. A prevalência de transtornos de humor em mulheres no período gravídico-puerperal está de acordo com a encontrada na literatura.

II. Existe associação significativa entre transtornos do humor no período pós-parto e risco de suicídio;

III. Mulheres no pós-parto com história de tratamento anterior para doença psiquiátrica prévia apresentam maiores níveis de BDNF;

IV. Mulheres no período pós-parto com transtornos do humor e risco de suicídio apresentam níveis de BDNF, NGF, IL-6 e cortisol alterados em comparação àquelas sem transtorno do humor;

V. A exposição a eventos estressores de vida no período gestacional está associada a transtornos do humor e risco de suicídio no pós-parto;

VI. A exposição a eventos estressores de vida no período gestacional está associada a níveis mais baixos de BDNF em mulheres no pós-parto;

VII. Transtornos de humor maternos prejudicam o desenvolvimento neurobiológico dos bebês desencadeando menor desempenho motor, indicando provavelmente menor maturação motora;

VIII. A alteração nos níveis de BDNF, NGF, IL-6 e cortisol está associada a presença de desenvolvimento motor inadequado;

IX. Os problemas de sono em bebês de um ano em nossa amostra têm prevalência semelhante à encontrada na literatura mundial;

X. Os transtornos do humor maternos prejudicam o desenvolvimento adequado dos bebês desencadeando desordens de sono.

III. REVISÃO DE LITERATURA

A gestação e o puerpério são períodos da vida da mulher em que ocorrem inúmeras alterações físicas, hormonais e psíquicas, que podem refletir diretamente na saúde mental das mesmas. Este período traz consigo uma série de vulnerabilidades à saúde da mulher, entre as quais transtornos do humor^{14,15}.

Os transtornos do humor no pós-parto são importante problema de saúde pública, afetando cerca de 13% a 20% das mulheres neste período e ocorrem, na maioria das vezes, durante as primeiras quatro semanas de puerpério, geralmente alcançando sua maior intensidade nos primeiros seis meses após o parto³. Sentimentos de culpa, distúrbios do sono, medo de ferir o bebê, diminuição do apetite e da libido, inabilidade de pensar claramente ou tomar decisões e presença de ideias desvalorizadas são comuns e podem ser pioradas quando ocorrem com ideias suicidas¹. As taxas de suicídio associado a transtornos do humor no período pós-parto são inferiores às taxas da população em outros períodos não férteis, entretanto, um relatório britânico cita o suicídio em associação à doença mental grave como principal causa de morte materna¹⁶. O suicídio é um comportamento humano com causas neurobiológicas e psicossociais, estando fortemente associado a transtornos mentais, especialmente a transtornos do humor¹⁷. Na faixa etária entre 15 e 35 anos o suicídio está entre as três maiores causas de morte, período reprodutivo durante o qual grande parte das mulheres engravidam e dão à luz. O suicídio não só traz conseqüências pessoais, mas também para aproximadamente cinco ou seis pessoas próximas ao falecido, que sofrem conseqüências emocionais¹⁸. Portanto, o bebê de uma mãe que se suicida sofre inestimáveis conseqüências.

Não apenas o suicídio associado aos transtornos do humor gera conseqüências para a criança, mas a gravidade e cronicidade da depressão materna levam a alterações no desenvolvimento de seus bebês¹⁹. Mães deprimidas dedicam menos tempo aos seus filhos,

oportunizando menos interações positivas com eles. Além disso, mostram-se mais inconsistentes e menos efetivas no manejo com seus filhos que mães não deprimidas^{13,20}. Estudos recentes têm demonstrado a influência das mães no desenvolvimento neurobiológico de seus filhos¹². A importância das primeiras interações afetivas e sociais no desenvolvimento psicológico, embora já presentes no trabalho de Freud e outros pioneiros do estudo do desenvolvimento, recebeu especial atenção apenas nos últimos anos²¹. Atualmente tem-se conhecimento que o desenvolvimento social precoce de um bebê é fundamental e que é a mãe o primeiro objeto mediador do ambiente externo²². A função modulatória materna na entrada ambiental é essencial para a facilitação (e inibição) de maturação, dependendo da experiência da criança desenvolver estruturas biológicas, particularmente neurobiológicas²³. Quando a mãe falha em prover incentivos adequados aos seus bebês nos primeiros meses de vida há chance de ocorrerem perdas significativas no desenvolvimento neurobiológico dos mesmos²⁴. Quando comparados com bebês de mães saudáveis filhos de mães com transtornos afetivos apresentam, por exemplo, mais probabilidade de apresentarem atrasos no desenvolvimento motor ou alterações do sono. O processo de maturação motora ocorre de forma dinâmica, sendo suscetível a inúmeros estímulos externos²⁵, inclusive as práticas maternas²⁶. Os problemas de sono são bastante frequentes no primeiro ano de vida, com uma prevalência que varia de 14% a 46%, dependendo da metodologia do estudo^{27,28}. Além disso, estes problemas apresentam tendência a persistirem ao longo do tempo²⁹ e a alterarem também o afeto, a atenção, a cognição e o desenvolvimento da linguagem^{30,31}, sendo por isso de relevada importância sua prevenção.

A etiologia dos transtornos do humor que tantas repercussões geram ao bebê e à própria mãe ainda não é conhecida. Muitos estudos têm mostrado que transtornos do humor são causados pelo impacto cumulativo de aspectos genéticos, eventos adversos na infância e eventos estressores³². A interação gênica com fatores ambientais se torna evidente pelo fato

de que a herdabilidade dos transtornos afetivos não é de 100%³³. Caspi e Moffitt adotaram um modelo de interação gene e ambiente. Este modelo assume que eventos estressores ambientais sejam desencadeantes de transtornos mentais em sujeitos suscetíveis geneticamente⁴. Estressores físicos, fatores psicológicos, como o parto, a novidade do papel de mãe ou problemas sociais podem ser agentes estressores capazes de induzir alterações comportamentais e fisiológicas significativas^{34,35}.

As bases neurobiológicas dos transtornos do humor relacionam-se na interação de múltiplos genes, à regulação da expressão desses genes, às vias de transcrição de sinal, às vias neurohormonais, à neurotransmissão, ao estresse oxidativo, entre outras³³.

Estudos com modelos animais têm mostrado que anormalidades estruturais e funcionais em pacientes com transtornos do humor podem estar associados com níveis alterados de neurotrofinas como fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), fator de crescimento nervoso (NGF) e citocinas como interleucina 6 (IL-6), anormalidades funcionais no eixo hipotálamo-hipófise-adrenal e toxicidade mediada por glutamato^{36,37,38}.

Pacientes com transtornos do humor mostram uma redução do volume do córtex préfrontal subgenuar em contraste com aumento do volume da amígdala e do estriado. Associado a esses achados observou-se menor número de neurônios não-piramidais, especialmente aqueles com fenótipo GABAérgico^{33,39}. Funcionalmente parece haver significativa diminuição do metabolismo do córtex préfrontal nos episódios depressivos, com subsequente aumento nos episódios maníacos.

A hipótese neurotrófica da depressão sugere que estresse e transtornos afetivos estão associados com expressão diminuída de BDNF³⁶, podendo a maternidade ser entendida como um evento estressor que contribui para a etiologia dos transtornos do humor no período pós-parto. Além da situação de estresse a mãe mostra baixos níveis de BDNF. Diversos estudos têm mostrado que fatores estressores e trauma emocional estão associados com aumento do

risco de desordens psicopatológicas e de tentativa de suicídio, incluindo depressão unipolar, mania e transtorno bipolar, sendo os níveis de BDNF negativamente correlacionados com a severidade destes distúrbios³².

É importante pensar que BDNF, uma neurotrofina densamente distribuída no cérebro, tem um papel importante em uma gama de processos neurodegenerativos, neuroinflamatórios e de transtornos neurodesenvolvimentais, assim como em diversas desordens afetivas, entre as quais os transtornos do humor^{32,40}. Alterações patológicas no sistema do fator neurotrófico podem não apenas levar a defeitos na manutenção e regeneração neural e, por conseguinte anormalidades estruturais no cérebro, mas também reduzir a plasticidade e portanto aumentar a habilidade pessoal de adaptar-se a situações de crise⁴⁰.

O NGF, por seu turno foi a primeira neurotrofina descoberta há mais de cinquenta anos, como uma molécula trófica que regula a sobrevivência e a maturação dos neurônios simpáticos no sistema nervoso periférico system⁴¹. Atualmente, no entanto, é evidente que essa neurotrofina é um importante mediador da plasticidade sináptica e morfológica⁷. A sua expressão e de seus receptores é regulada por aumentos significativos, entre diversos fatores, eventos estressores^{7,42,43,44}.

Vários estudos têm apontado para eventos de vida e depressão como os maiores fatores contribuidores para o suicídio. Eles têm investigado o papel do BDNF no comportamento suicida³⁶. Outros estudos, entretanto, mostraram que transtornos do humor têm um papel importante no comportamento suicida, incluindo a depressão unipolar. Transtorno bipolar está associado com elevadas taxas de mortalidade, assim como risco de suicídio³².

Diante deste panorama é de suma importância que se realizem estudos com o intuito de contribuir para um maior conhecimento dos fatores que estão associados ao adoecimento da mulher no período pós-parto e suas repercussões nos bebês.

3.1. Estratégias de Busca

Palavras	Artigos Encontrados	
	Base de Dados	Basede Dados
	Pubmed	Lilacs
Mood disorder	334	105888
Bipolar disorder	503	30551
Depression	5434	252184
Suicide risk	12371	184
Postpartum and mood disorder	4	5
Postpartum and bipolar disorder	0	0
Suicide risk and postpartum	67	2
Suicide risk and postpartum and bipolar	15	0
Suicide risk and women and bipolar	482	1
Suicide risk and mothers	129	3
Posrpartum depression and infant sleep disorder	36	2
BDNF and mood disorder	0	0
BDNF and bipolar disorder	211	0
BDNF and postpartum	22	0
Infant development and neurophins	14	0
NGF and bipolar disorder	7	0
NGF and postpartum	0	0
Infant development and cortisol	1221	24
Interleukin 6 and bipolar disorder	28	0
Interleukin 6 and postpartum	98	0

I V. MÉTODOS

4.1. Delineamento

Estudo longitudinal de base populacional em mulheres no período gravídico-puerperal e seus bebês com corte transversal.

4.2. Amostra

O presente estudo faz parte de um estudo de coorte maior que objetiva estudar a saúde de mães, pais e seus bebês no período gravídico-puerperal, até doze meses de vida. O tamanho da amostra foi estimado com o programa EpiInfo 6.04d ⁴⁵, com nível de confiança de 95% e poder 80%. A prevalência de transtornos afetivos no período gravídico-puerperal varia entre 13% e 20%¹, a prevalência de risco de suicídio em mulheres neste período é de 5,7% e em mulheres no pós-parto com transtorno do humor é de 38,9% (risco estimado de 2,2), sendo o tamanho de amostra necessário de 657 mulheres.

A amostra do presente estudo foi constituída por todas as mulheres grávidas que aceitaram participar do estudo e seus bebês, após o parto, recrutadas do Sistema Único de Saúde da cidade de Pelotas que realizaram acompanhamento pré-natal em 38 Unidades Básicas de Saúde que faziam parte do Programa SIS – Prénatal da Secretaria Municipal de Saúde e em duas Unidades Básicas que não faziam parte do programa, no período de julho de 2007 a outubro de 2008. Os critérios de inclusão foram: ter mais de 18 anos de idade, residir em zona urbana da cidade de Pelotas e ser capaz de entender responder às questões de questionário incluído no estudo e não realizar tratamento medicamentoso para os transtornos do humor.

4.3. Instrumentos

Os transtornos de humor e o risco de suicídio foram avaliados com uma entrevista diagnóstica padronizada breve - Mini International Neuropsychiatric Interview (MINI). Esta entrevista de curta duração, entre 15 e 30 minutos de aplicação, é destinada à utilização na prática clínica e de pesquisa, e objetiva classificar os entrevistados de acordo com os critérios do DSM-IV e do CID-10. Com este instrumento se detecta a presença de episódio depressivo, episódio maníaco/hipomaníaco, distímia, transtorno de ansiedade generalizada, transtorno do pânico, agorafobia, fobia social, transtorno obsessivo-compulsivo, transtorno de estresse pós-traumático e risco de suicídio. A versão utilizada neste estudo foi a do MINI 5.0 em português, desenvolvida para utilização em cuidados primários e em ensaios clínicos⁴⁶. O instrumento é constituído por módulos diagnósticos independentes que objetivam reduzir o tempo de entrevista. A aplicação estruturada em questões dicotômicas é de fácil compreensão. Todas as seções diagnósticas iniciam por questões que exploram critérios obrigatórios, o que permite a exclusão de diagnóstico em caso de respostas negativas. A sessão de suicídio é composta por seis questões. O risco de suicídio varia entre baixo, moderado e alto. As análises deste estudo serão realizadas com a criação de uma variável presença ou ausência de risco de suicídio.

Depressão pós-parto também foi avaliada com a Edinburgh Postpartum Depression Scale (EPDS) na versão validada para o português⁴⁷. Esta escala consiste em 10 questões autoaplicadas em formato de respostas tipo Likert. O estudo de validação com ponto de corte de 10 pontos encontrou sensibilidade de 82,6% e especificidade de 65,4%.

Os bebês foram avaliados pela escala Alberta Infant Motor Scale (AIMS)⁴⁸. Este instrumento incorpora o conceito neuromaturacional e a teoria dos sistemas dinâmicos, amplamente utilizada para documentar o desenvolvimento de aquisições motoras amplas e

identificar crianças com atraso no desenvolvimento motor, desde o nascimento até a idade de andar independente (18 meses de vida), em diferentes populações. É uma escala observacional composta por 58 itens que informam sobre movimentação espontânea da criança em quatro subescalas ou posturas: prono (21 itens), supino (9 itens), sentado (12 itens) e de pé (16 itens). Os itens são apresentados em forma de desenhos ordenados de acordo com as etapas de desenvolvimento em cada subescala e são acompanhados de critérios específicos de observação que consideram os aspectos de postura, distribuição de peso e movimentos gravitacionais apresentados pela criança. A pontuação é realizada pela classificação dos itens da escala em observado (O) ou não observado (NO). Para cada item observado era atribuído um ponto e zero para cada item não observado. Em cada subescala o examinador estabelece a janela de habilidades motoras que compreende as habilidades menos e mais avançadas apresentadas pela criança. Os itens situados anteriormente à janela recebem um ponto cada, considerados já incorporados ao repertório motor amplo da criança. Dentro da janela se observa quais itens a criança desempenha (O) e quais não desempenha (NO), determinando-se desta forma o escore em cada subescala. O escore bruto é obtido pelo somatório dos pontos nas subquatro escalas. O escore bruto total e a idade da criança são colocados em um gráfico disponível na folha de teste, o qual permite identificar o percentil de desempenho motor amplo da criança.

Os fatores estressores de vida foram acessados por seis questões obtidas da Escala de Eventos de Vida, adaptada para o português⁴⁹. As questões abordam sobre a morte de alguém da família, doença grave, mudança de endereço, desemprego, separação conjugal e risco de aborto, todos no período gestacional.

A classificação socioeconômica da amostra utilizou os critérios da Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa (ABEP)⁵⁰. Essa classificação baseia-se na escolaridade do chefe da família e no acúmulo de bens materiais, classificando os sujeitos em cinco níveis (A,

B, C, D e E, sendo a E o mais baixo). Os níveis da ABEP serão divididos em três grupos para as análises (A e B, C e D e E).

Os níveis de BDNF, NGF e IL-6 foram mensurados a partir de amostras de sangue venoso periférico da mãe. As amostras de sangue (5ml) de todas as mães foram coletadas em tubos livres de anticoagulantes (*vacutainer system*) entre as 08:00h e 10:00h. As amostras foram imediatamente centrifugadas a 5,000 x g por 10 min, e o soro armazenado a - 80°C até a realização das análises. Os níveis séricos de NGF, BDNF e IL-6 foram medidos usando um kit comercial de enzima imunoenensaio (DuoSet ELISA Development, R&D Systems Inc., USA). O NGF, BDNF e a IL-6 foram após determinados por medida de absorvância em 450 nm com o SpectraMax M5 (Molecular Devices, USA). Todas as amostras e padrões foram medidos duplamente, e o coeficiente de variação foi menor que 5% (Haas et al., 2010). Os níveis séricos de NGF, BDNF e IL-6 foram expressos em ng/ml.

O cortisol da mãe e do bebê foi mensurado através de amostras salivares. A saliva foi coletada em domicilio através de salivetes inseridos abaixo da língua, com a boca totalmente limpa sem resíduos de alimentos ou leite. Este salivete permaneceu na boca, por aproximadamente 3 minutos, sendo após removido e colocado em uma seringa vazia, e com auxílio do embolo pressionado até que toda saliva retida no algodão fosse removida. As amostras obtidas foram transferidas para um tubo plástico devidamente identificado com o número e o nome do participante e imediatamente centrifugadas em 5,000 x g por 10 minutos e o sobrenadante congelado a -80°C até a realização das análises. A coleta de saliva foi realizada no período da manhã entre as 8:00h e 10:00h. O cortisol após foi determinado por mensuração da absorvância em 450nm com o SpectraMax M5 (Molecular Devices, USA). Todas as amostras e padrão foram medidas em duplicata, e o coeficiente de variação foi menor que 5%. Os níveis de cortisol salivar foram expressos em µg/dl.

Um questionário com variáveis sociodemográficas, obstétricas e sobre as condições do nascimento do bebê foi construído.

As desordens no sono dos bebês foram avaliadas aos dozes meses de idade dos mesmos através de um questionário autoaplicado com quatro itens respondidos tanto pelas mães quanto pelos pais sobre o sono de seus filhos. Foram questionados os seguintes comportamentos de sono disfuncional: dormir menos ou mais que doze horas por dia, tempo dos despertares noturnos, ausência de rotina para dormir e terror noturno.

4.4. Definições das Variáveis

Artigo 1: BDNF levels in women with postpartum affective disorder and suicidality

Variável Dependente:

Risco de suicídio (dicotômico: Sim/Não)

Variáveis Independentes:

Classificação socioeconômica (ordinal: A e B, C, D e E)

Idade (ordinal: Até 19 anos, de 20 a 34 anos e 35 anos ou mais)

Morar com o parceiro (dicotômico: Sim/Não)

Primiparidade (dicotômico: Sim/Não)

Abuso de álcool (dicotômico: Sim/Não)

Transtorno de humor do companheiro (dicotômico: Sim/Não)

Transtorno de Ansiedade (dicotômico: Sim/Não)

Episódios de alteração do humor categórica (nada; hipomania; mania; depressão; misto)

Níveis séricos de BDNF (contínua)

Artigo 2: NGF

Variável Dependente:

Desenvolvimento neurobiológico – motor - do bebê aos 4 meses de idade (contínua)

Variáveis Independentes:

Classificação socioeconômica (ordinal: A e B, C, D e E)

Idade da mãe (ordinal: Até 19 anos, de 20 a 34 anos e 35 anos ou mais)

Episódios de alteração do humor da mãe (categórica: nada; hipomania; mania; depressão; misto)

Níveis séricos de NGF, BDNF da mãe (contínua)

Cortisol salivar da mãe (contínua)

Cortisol salivar do bebê (contínua)

Artigo 3: Chrocity and severity of maternal postpartum depression and infant sleep disorders:

A population-based cohort study in southern Brazil

Variável Dependente:

Transtorno do sono no bebê aos 12 meses de idade (dicotômico: Sim/Não)

Variáveis Independentes:

Classificação socioeconômica (ordinal: A e B, C, D e E)

Idade da mãe (ordinal: Até 19 anos, de 20 a 34 anos e 35 anos ou mais)

Depressão materna (dicotômico: Sim/Não)

História de episódio depressivo no passado (dicotômico: Sim/Não)

4.5. Pessoal Envolvido

A equipe envolvida no trabalho de campo foi composta por três mestrandos e sete bolsistas de iniciação científica vinculados ao Programa de Pós Graduação em Saúde e Comportamento da UCPel. Estes acadêmicos foram treinados e participaram de reuniões semanais com a equipe técnica para esclarecimento de dúvidas e controle do trabalho de campo. As análises dos marcadores bioquímicos foram realizadas por dois bioquímicos experientes. A avaliação do desenvolvimento neurobiológico – motor- dos bebês será realizada por fisioterapeuta treinada. As análises dos dados e a produção de artigos foram realizadas pela doutoranda.

4.6. Estudo-piloto

O estudo piloto foi realizado com as primeiras 30 mulheres que foram cadastradas no Programa de Pré-natal da Secretaria de Saúde da cidade de Pelotas a partir de junho de 2007 e não foram incluídos na amostra. O estudo piloto teve o objetivo de inserir aspectos práticos e vivenciais ao treinamento, bem como testar a logística do estudo e promover as modificações necessárias.

4.7. Logística

A coleta de dados foi realizada em momentos distintos, conforme fluxograma abaixo:

1ª ETAPA

Visitas semanais à Secretaria de Saúde para detecção e atualização da amostra
Consentimento informado
Aplicação dos instrumentos

2ª ETAPA

Visita domiciliar pós-parto (45 a 90 dias após o nascimento do bebê)
Aplicação de instrumentos
Coleta de material biológico (marcadores bioquímicos)

3ª ETAPA

Visita domiciliar pós-parto (4 meses após o nascimento do bebê)
Avaliação do desenvolvimento neurobiológico – motor do bebê

4ª ETAPA

Visita domiciliar pós-parto (12 meses após o nascimento do bebê)
Aplicação de instrumentos

Após a captação da amostra, uma ficha com dados da gestante foi encaminhada aos entrevistadores para aplicação dos instrumentos.

Uma previsão dos nascimentos foi feita de acordo com a idade gestacional e a data da captação. No mês em que a criança deveria nascer novo contato com a mãe, pai ou outro membro da família foi realizado a fim de obter a data em que o parto ocorreu. Nos casos em que o contato não foi possível a data de nascimento foi verificada no cadastro do Sistema de Informações de Nascidos Vivos (SINASC) da Secretaria Municipal de Saúde da cidade de Pelotas.

Trinta dias após o nascimento do bebê, novas visitas domiciliares foram realizadas para avaliação da amostra no pós-parto e coleta de material biológico. Quatro meses após o nascimento dos bebês foi realizada a avaliação do desenvolvimento neurobiológico – motor dos bebês. Finalmente, aos doze meses de nascimento foi realizada a aplicação de instrumentos visando avaliar fatores psicológicos da vida da mãe e o sono dos bebês.

4.8. Controle de Qualidade

No intuito de verificar a qualidade das entrevistas domiciliares realizadas no estudo foram realizados contatos telefônicos em 30% da amostra, além de revisita a 10% dos participantes desta investigação. Amostra do controle de qualidade foi selecionada aleatoriamente.

4.9. Processamento e Análise dos Dados

Após a codificação dos instrumentos foi realizada dupla entrada dos dados no programa EpiInfo 6.04d. Para realização de checagem automática dos dados no momento da digitação foi utilizado o comando *check*, além de serem testadas no mesmo *software* as inconsistências na digitação comparando as duas entradas de dados.

Para análise dos dados foram utilizados os programas SPSS 13.0 e STATA 9.

Visto que os três artigos vinculados ao projeto apresentam objetivos diferentes, considerando variáveis e instrumentos diversos, para a análise dos dados foram utilizadas técnicas distintas.

4.10. Divulgação dos Resultados

Os resultados do estudo serão divulgados à comunidade científica por meio de produção de artigos sobre o tema, às autoridades de saúde da cidade através de relatórios descritivos, à população participante e à comunidade em geral através da publicação dos resultados em meios de comunicação de massa.

4.11. Considerações Éticas

Neste protocolo de pesquisa foram e serão respeitados todos os princípios éticos estabelecidos pelo Conselho Nacional de Saúde na resolução nº 196 de 10 de outubro de 1996. As mulheres receberam informações sobre os objetivos da pesquisa e assinaram um “Consentimento Livre e Esclarecido”. Foi assegurado o direito de confidencialidade dos dados e o cuidado na utilização das informações nos trabalhos escritos, de modo que os participantes não possam ser identificados.

As mulheres que apresentaram, em qualquer fase do estudo, algum transtorno mental foram encaminhadas para atendimento psiquiátrico no Ambulatório de Psiquiatria da UCPel. Os bebês com prejuízo no desenvolvimento neuropsicomotor foram encaminhados a clínica de fisioterapia da UCPel.

4.12. Cronograma

Atividades	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	
Revisão de literatura	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Treinamento das escalas	X																								
Estudo piloto		X																							
Trabalho de campo			X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X												
Codificação dos dados			X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X											
Digitação dos dados			X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X											
Análise dos resultados																X	X	X	X	X					
Elaboração 1º artigo																	X	X							
Elaboração 2º artigo																			X	X	X				
Elaboração 3º artigo																						X	X		
Defesa da tese																									X

*Refere-se aos meses de março e abril de 2007

4.13. Orçamento

Material de consumo	Quantidade (unidades)	Preço unitário (R\$)	Preço Total (R\$)
Kit para dosagem de BDNF humano	3	4200,00	12600,00
Kit para dosagem de NGF humano	3	4200,00	12600,00
Kit para dosagem de IL-6 humano	3	4200,00	12600,00
Kit para dosagem cortisol salivar humano	3	1800,00	5600,00
Reagentes de grau analítico (sais, tween 20)		3000,00	3000,00
Material para coleta (tubos, seringas, agulhas. Luvas, microtubos, etc.)		4000,00	4000,00
Vale transporte	1500	2,00	3000,00
Cópias dos instrumentos	2000	0,75	1500,00
Total			54.900,00

V. REFERÊNCIAS

- 1.Moraes IG, Pinheiro RT, Silva RA, Horta BL, Souza PL, Faria AD. Prevalence of postpartum depression and associates factors. *Rev. Saúde Pública* 2006; 40(1): 65-70.
- 2.Lopez, AD, Murray, CC. The global burden of disease, 1990- 2020. *Nat Med* 1998;4(11):1241-3.
- 3.Pinheiro RT, DA Silva RA, Magalhães PV, Horta BL, Pinheiro KA. Two studies on suicidality in the postpartum. *Acta. Psychiatr. Scand* 2008;118(2): 160–163.
- 4.Caspi, A, Moffit, TE. Gene-environment interactions in psychiatry: joining forces with neuroscience. *Nature Reviews. Neuroscience* 2006; 7(7): 583-90.
- 5.Field T, Diego M, Hernandez-Reif M, Figueiredo B, Deeds O, Contogeorgos J, Ascencio A. Prenatal Paternal Depression. *Infant Behavior Development* 2006; 29 (4): 579-83.
- 6.Smith MA, Makino S, Kvetnansky R, Post RM. Effects of stress on neurotrophic factor expression in the rat brain. *Ann N Y Acad Sci* 1995; 771:234–39.
- 7.Thoenen H. Neurotrophins and neuronal plasticity. *Science* 1995; 270: 593–98.
- 8.Duman RS, Heninger GR, Nestler EJ. A molecular and cellular theory of depression. *Arch Gen Psychiatry* 1997; 54: 597–606.
- 9.Steinman L. Elaborate interactions between the immune and nervous systems. *Nat Immunol* 2004; 5: 575–581.
- 10.Hawton K, Heeringen KV. Suicide. *The Lancet* 2009; 373: 1372-81.
- 11.Pinheiro KAT, Pinheiro RT, Silva RA, Coelho FMC, Quevedo LA, Godoy RV, Jansen K, Horta BL. Chronocity and severity of maternal postpartum depression and infant sleep disorders: A population-based cohort study in southern Brazil. *Infant Behavior and Development* (2011), doi:10.1016/j.infbbeh.2010.12.006

12. Glasser, D. Child abuse and neglect and the brain_ A review. *J. Child. Psychol. Psychiat* 2000, 97:116-41.
13. Cicchetti, D., e Toth, S. L. A development psychopathology perspective on child abuse and neglect. *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry* 1995; 34(5): 541-65.
14. Kelly E, Sharma V. Diagnosis and treatment of postpartum bipolar depression. *Expert Rev Neurother.*, 2010, 10(7): 1045-51.
15. Andrade LHG, Viana MC, Silveira CM. Epidemiologia dos transtornos psiquiátricos na mulher. *Revista de Psiquiatria Clínica* 2006; 33(2) 98-101
16. Appleby L, Mortensen PB, Faragher EB. Suicide and other causes of mortality after postpartum psychiatric admission. *BJ Psych.*, 1998; 173:209-11.
17. Rihmer Z. Can better recognition and treatment of depression reduce suicide rates? A brief review. *Eur Psychiatry.* 2001; 16(7): 406-9.
18. Ministerio da Saude (BR). *Prevencao do Suicidio: Manual dirigido a profissionais das equips de saude mental.* Brasilia (DF): Ministerio da Saude, 2006. Disponível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_editotacao.pdf. Acesso em 22 Jan. 2011.
19. Brennan, P. A., Hammen, C., Andersen, M. J., Bor, W., Najman, J. M., e Williams, G. M. Chronicity, severity, and timing of maternal depressive symptoms: Relationships with child outcomes age 5. *Developmental Psychology* 2000; 36(6): 759-66.
20. Field, T. Postpartum depression effects on early interactions, parenting, and safety practices: A review. *Infant Behavior and Development* 2010; 33(1): 1-6.
21. Rutter, M.; Rutter, M. *Developing Minds: Challenge and Continuity across the Life Span.* Basic Books Inc; U.S: 1993.
22. Bowlby J. Attachment and loss: retrospect and prospect. *Am J Orthopsychiatry* 1982;52:664-678.

- 23.Schore AN. Attachment and the regulation of the right brain. *Attach Hum Dev* 2000; 2:23-47.
- 24.Bear, MF; Connors, BW e Paradiso, MA. *Neurosciense: exploring the brain*. Lippincott Williams e Wilkins, 2001, 727-30.
- 25.Willrich A, Azevedo CCF, Fernandes JO. Motor development in childhood: influence of the risk factors and intervention programs. *Ver. Neurocienc.*, 2009, 17(1): 51-6.
- 26.Santos DCC. *Desenvolvimento motor durante o primeiro ano de vida: uma comparação entre um grupo de lactentes brasileiros e americanos [tese]* Campinas: Universidade Estadual de Campinas; 2001.
- 27.Hiscock, H., e Wake, M. Infant sleep problems and postnatal depression: A community-based study. *Pediatrics* 2001; 107(6): 1317-22.
- 28.Martin, J., Hiscock, H., Hardy, P., Davey, B., e Wake, M. Adverse associations of infant and child sleep problems and parent health: An Australian population study. *Pediatrics*. 2007; 119(5): 947-55.
- 29.Gregory, A. M., e O'Connor, T. G. Sleep disorders in childhood: A longitudinal study of development change and association with behavioral problems. *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry* 2002; 41: 964-71.
- 30Dahl, R. E. The impact of inadequate sleep on children daytime cognitive function. *Seminars in Pediatric Neurology* 1996; 3(1): 44-50.
- 31.Tronik, E., e Reck, C. Infant of depression mothers. *Harvard Review of Psychiatry* 2009; 17(2): 147-56.
- 32.Kauer San'Anna M, Kapczinski F, Andreazza AC, Bond DJ, Lam RW, Trevor Young L, Yatham N. Brain-derived neurotrophic factor and inflammatory markers in patients with early- vs. late-stage bipolar disorder. *International Journal of Neuropsychopharmacology* 2009; 12:447-458.

- 33.Kapczinski F, Quevedo J. Transtorno bipolar teoria e pratica. 1^a. ed. Porto Alegre: Artes Medicas, 2009.
- 34.Joca SRL, Padovan CM, Guimarães FS. Stress, depression and the hippocampus. *Rev. Bras. Psiquiatr.* 2003; 25(2): 46-51.
- 35.Guedes-Silva D, Souza M, Moreira V, Genestra M. Depressão pós-parto: prevenção e conseqüências. *Ver. Mal-Estar Subj* 2003; 3(2): 134-37.
- 36.Dwivedi Y. Brain-derived neurotrophic factor: role in depression and suicide. *Neuropsychiatric Disease and Treatment* 2009; 5: 433-49.
- 37.Sen S, Duman R, Sanacora G. Serum Brain-Derived Neurotrophic Factor, Depression, and Antidepressant Medications: Meta-Analyses and Implications. *Biol Psychiatry.* 2008
- 38.Hellweg R, Ziegenhorn A, Heuser I, Deuschle M. Serum concentrations of nerve growth factor and brain-derived neurotrophic factor in depressed patients before and after antidepressant treatment.
- 39.Stracowski SM, Delbelo MP, Adler CM. The functional neuroanatomy of bipolar disorder: a review of neuroimaging findings. *Molecular Psychiatry* 2005; 10: 105-16.
- 40.Dan Stein DJ, Daniels WMU, Savitz J, Harvey BH. Brain-derived neurotrophic factor: The neurotrophin hypothesis of psychopathology. *Pearls in Clinical neuroscience* 2008; 13(11): 045-49.
- 41.Levi-Montalcini R. The nerve growth factor 35 years later. *Science* 1987;237:1154–1162.
- 42.Castren E, Zafra F, Thoenen H, Lindholm D. Light regulates expression of brain-derived neurotrophic factor mRNA in rat visual cortex. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992;89:9444–9448.
- 43.Schmidt MV, Oitzl MS, Levine S, de Kloet ER. The HPA system during the postnatal development of CD1 mice and the effects of maternal deprivation. *Brain Res Dev Brain Res* 2002;139:39–49.

44. Russo-Neustadt A, Ha T, Ramirez R, Kesslak JP. Physical activity-antidepressant treatment combination: impact on brain-derived neurotrophic factor and behavior in an animal model. *Behav Brain Res* 2001;120:87–95.
45. Dean AG, Dean JA. A word processing database, and statistics program for epidemiology on microcomputers. C.O.D.C.A. Prevention. Atlanta, Georgia, U.S.A. 1994.
46. Amorim P. Mini Internacional Neuropsychiatric Interview (MINI): validação de entrevista breve para diagnóstico de transtornos mentais. *Rev. Bras. Psiquiatr.* 2000; 22(3), 106–115.
47. Santos, I.S., Matijasevich, A., Tavares, B.F., Barros, A.J.D., Botelho, I.P., Lapolli, C. et. al. Validation of the Edinburgh Postnatal Depression Scale (EPDS) in a sample of mothers from the 2004 Pelotas Birth Cohort Study. *Cadernos de Saúde Pública.* 2007; 23(11): 2577-88.
48. Piper MC, Pinnel LE, Darrah J, Magiure T, Byrne PJ. Construction and validation of the Alberta Infant Motor Scale (AIMS). *Can J Public Health.* 1992; 83(2): 46-50.
49. Savoia MG. Escalas de eventos vitais e de estratégias de enfrentamento (coping)/Life events and coping scales. *Rev. Psiquiatr. Clin.* 1999;26(2), 57–67.
50. IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística: www.ibge.org.br 2006.

VI. ANEXOS

ANEXO 6.1
M.I.N.I.
Mini International Neuropsychiatric Interview
Brazilian version 5.0.0
DSM IV

ANEXO 6.2
EDINBURGH POSTNATAL SCALE
(EPDS)

Edinburgh Postnatal Depression Scale (EPDS)

1. **Eu tenho sido capaz de rir e achar graça das coisas.**
 - () Como eu sempre fiz.
 - () Não tanto quanto antes.
 - () Sem dúvida, menos que antes.
 - () De jeito nenhum.

2. **Eu tenho pensado no futuro com alegria.**
 - () Sim, como de costume.
 - () Um pouco menos que de costume.
 - () Muito menos que de costume.
 - () Praticamente não.

3. **Eu tenho me culpado sem razão quando as coisas dão errado.**
 - () Não, de jeito nenhum.
 - () Raramente.
 - () Sim, às vezes.
 - () Sim, muito freqüentemente.

4. **Eu tenho ficado ansiosa ou preocupada sem uma boa razão.**
 - () Sim, muito seguido.
 - () Sim, às vezes.
 - () De vez em quando.
 - () Não, de jeito nenhum.

5. **Eu tenho me sentido assustada ou em pânico sem um bom motivo.**
 - () Sim, muito seguido.
 - () Sim, às vezes.
 - () Raramente.
 - () Não, de jeito nenhum.

6. **Eu tenho me sentido sobrecarregada pelas tarefas e acontecimentos do meu dia-a-dia.**
 - () Sim. Na maioria das vezes eu não consigo lidar bem com eles.
 - () Sim. Algumas vezes não consigo lidar bem como antes.
 - () Não. Na maioria das vezes consigo lidar bem com eles.
 - () Não. Eu consigo lidar com eles tão bem quanto antes.

7. **Eu tenho me sentido tão infeliz que eu tenho tido dificuldade de dormir.**
 - () Sim, na maioria das vezes.
 - () Sim, algumas vezes.
 - () Raramente.
 - () Não, nenhuma vez.

8. **Eu tenho me sentido triste ou muito mal.**

- Sim, na maioria das vezes.
- Sim, muitas vezes.
- Raramente.
- Não, de jeito nenhum.

9. Eu tenho me sentido tão triste que tenho chorado.

- Sim, a maior parte do tempo.
- Sim, muitas vezes.
- Só de vez em quando.
- Não, nunca.

10. Eu tenho pensado em fazer alguma coisa contra mim mesma.

- Sim, muitas vezes.
- Às vezes.
- Raramente.
- Nunca.

ANEXO 6.3
ALBERTA MOTOR SCALE
(AIMS)

ALBERTA INFANT MOTOR SCALE *Record Booklet*

















Name _____ Date of Assessment / /
Identification Number _____ Date of Birth / /
Examiner _____ Chronological Age / /
Place of Assessment _____ Corrected Age / /



















	Previous Items Credited	Items Credited in Window	Subscale Score
Prone			
Supine			
Sit			
Stand			








Total Score Percentile

.....
Comments/Recommendations







Alberta Infant Motor Scale

STUDY #				
PRONE	<p>Prone Lying (1)</p>  <p>Physiological flexion Turns head to clear nose from surface</p>	<p>Prone Lying (2)</p>  <p>Lifts head symmetrically to 45° Cannot maintain head in midline</p>	<p>Prone Prop</p>  <p>Elbows behind shoulders Unstabilized head (aging to 45°)</p>	<p>Prone Mobility</p>  <p>Head to 90° Uncontrolled weight shifts</p> <p>Forearm Support (1)</p>  <p>Lifts and maintains head past 45° Elbows in line with shoulders Chest centered</p> <p>Forearm Support (2)</p>  <p>Elbows in front of shoulders Active chin tuck with neck elongation</p>
SUPINE	<p>Supine Lying (1)</p>  <p>Physiological flexion Head rotation: mouth to hand Random arm and leg movements</p>	<p>Supine Lying (2)</p>  <p>Head in midline Head rotation forward midline Neurologically ATNR</p>	<p>Supine Lying (3)</p>  <p>Head in midline Moves arms but unstable to bring hands to midline</p>	<p>Supine Lying (4)</p>  <p>Neck flexion, chin tuck Brings hands to midline</p> <p>Hands to Knees</p>  <p>Chin tuck Reaches hands to knees Abdominals active</p>
SITTING	<p>Sitting With Support</p>  <p>Lifts and maintains head in midline briefly</p>		<p>Sitting With Propped Arms</p>  <p>Maintains head in midline Supports weight on arms briefly</p> <p>Pull to Sit</p>  <p>Chin tuck head in line or in front of body</p>	
STANDING	<p>Supported Standing (1)</p>  <p>May have intermittent hip and knee flexion</p>	<p>Supported Standing (2)</p>  <p>Head in line with body Hips behind shoulders Variable movement of legs</p>		

<p>Extended Arm Support</p>  <p>Arms extended Chin tucked and chest elevated Lateral weight shift</p>	<p>Rolling Prone to Supine Without Rotation</p>  <p>Movement initiated by head Trunk moves as one unit</p>	<p>Reaching from Forearm Support</p>  <p>Active weight shift from one side Controlled reach with free arm</p>	<p>Pivoting</p>  <p>Pivots Movement in arms and legs Lateral trunk flexion</p>	<p>Four-Point Kneeling (1)</p>  <p>Legs flexed, abducted and externally rotated Lumbar lordosis Maintains position</p>	
<p>Swimming</p>  <p>Active extensor pattern</p>		<p>Rolling Prone to Supine with Rotation</p>  <p>Trunk rotation</p>			
<p>Hands to Feet</p>  <p>Can maintain legs in mid-range Iliac instability present</p>	<p>Rolling Supine to Prone Without Rotation</p>  <p>Lateral head righting Trunk moves as one unit</p>	<p>Rolling Supine to Prone with Rotation</p>  <p>Trunk rotation</p>			
<p>Active Extension</p>  <p>Pushes into extension with legs</p>					
<p>Unsustained Sitting</p>  <p>Scapular adduction and humeral extension Cannot maintain position</p>	<p>Sitting With Arm Support</p>  <p>Thoracic spine extended Head movements free from trunk, propped on extended arms</p>	<p>Unsustained Sitting Without Arm Support</p>  <p>Cannot be left alone in sitting indefinitely</p>	<p>Weight Shift in Unsustained Sitting</p>  <p>Weight shift forward, backward, or sideways Cannot be left alone in sitting</p>	<p>Sitting Without Arm Support (1)</p>  <p>Arms move away from body Can play with a toy Can be left alone in sitting</p>	<p>Reach With Rotation in Sitting</p>  <p>Sits independently Reaches for toy with trunk rotation</p>
<p>Supported Standing (3)</p>					
					
<p>Hips in line with shoulders Active control of trunk Visible movements of legs</p>					

<p>Prone Sidelying</p>  <p>Disociation of legs Shoulder stability Rotation with body axis</p>	<p>Reciprocal Creeping (1)</p>  <p>Legs abducted and externally rotated Lumbar lateral weight shift side to side with lateral trunk flexion</p>	<p>Four-Point Kneeling (2)</p>  <p>Hips aligned under pelvis Flattening of lumbar spine</p>	
<p>Reciprocal Crawling</p>  <p>Reciprocal arm and leg movements with trunk rotation</p>	<p>Four-Point Kneeling to Sitting or Half-Sitting</p>  <p>Plays in and out of position May get to sitting</p>	<p>Reaching from Extended Arm Support</p>  <p>Reaches with extended arm Trunk rotation</p>	<p>Modified Four-Point Kneeling</p>  <p>Plays in position May move forward</p>

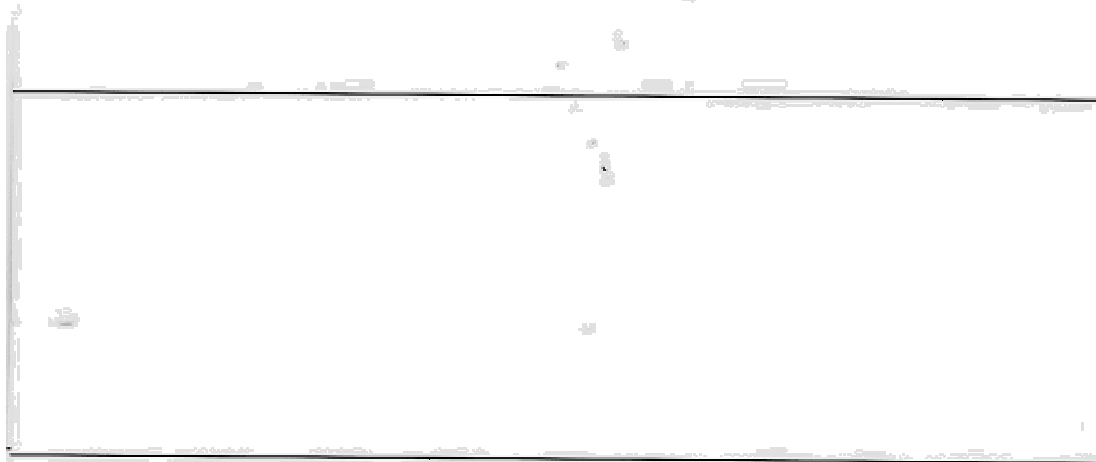
<p>Sitting to Prone</p>  <p>Moves out of sitting to achieve prone lying Puls with arms, legs inactive</p>	<p>Sitting to Four-Point Kneeling</p>  <p>Actively lifts pelvic, buttock, and unweighted leg to assume four-point kneeling</p>	<p>Sitting Without Arm Support (2)</p>  <p>Position of legs varies Infant moves in and out of position easily</p>
---	--	---

<p>Pulls to Stand With Support</p>  <p>Pushes down with arms and extends knees</p>	<p>Pulls to Stand/Stand</p>  <p>Pulls to stand, shifts weight from side to side</p>	<p>Supported Standing With Rotation</p>  <p>Rotation of trunk and pelvis</p>	<p>Cruising Without Rotation</p>  <p>Cruises sideways without rotation</p>	<p>Half-Kneeling</p>  <p>May assume standing or play in position</p>	<p>Controlled Lowering Through Standing</p>  <p>Controlled lowering from standing</p>
--	---	--	--	--	---

Reciprocal Creeping (2)



Lumbar spine flat
Moves with trunk rotation



Cruising With Rotation



Cruises with rotation

Stands Alone



Stands alone momentarily
Balance reactions in feet

Early Stepping



Walks independently, moves quickly with short steps

Standing from Modified Squat



Moves from squat to standing with controlled flexion and extension of hips and knees

Standing from Quadruped Position



Pushes quickly with hands to get to standing

Walks Alone



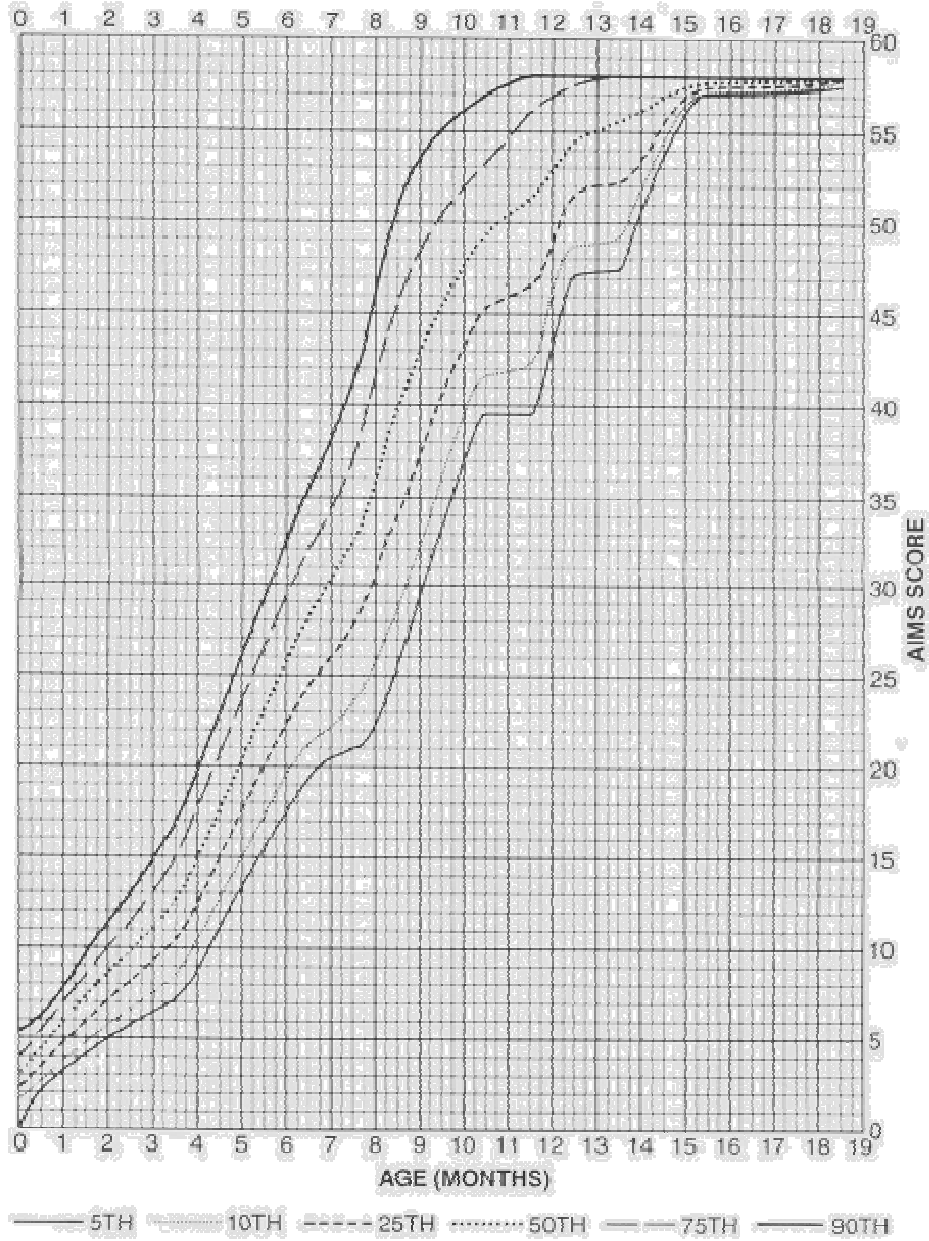
Walks independently

Squat



Maintains position by balance reactions in feet and position of trunk

Percentile Ranks



ANEXO 6.4
QUESTIONÁRIO DE CAPTAÇÃO



I UNIVERSIDADE CATÓLICA DE PELOTAS

PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM SAÚDE E COMPORTAMENTO



Oi, bom dia/tarde/noite! Meu nome é <entrevistadora>. Eu trabalho para Universidade Católica de Pelotas. Estamos realizando uma pesquisa e gostaríamos de saber como você tem se sentindo durante a gestação. Podemos contar com a sua colaboração? *(Agradecer a resposta)*

QUEST:

Nome da mãe:

Telefone:

Previsão do nascimento:

Telefone de um parente:

Entrevistadora Pré-Parto:

Endereço:

Existe algum ponto de referência por perto? Qual?

Qual a o ônibus que se pega para ir na sua casa?

Aonde se pega?

Onde se deve descer mais ou menos? E como ir até sua casa?

ANEXO 6.5
QUESTIONÁRIO MÃE PÓS-PARTO

ANEXO 6.6
QUESTIONÁRIO COLETA DE SANGUE

ANEXO 6.7
QUESTIONÁRIO SOBRE BEBÊ
(12 MESES)

ANEXO 6.8
CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Consentimento Livre e Esclarecido

UNIVERSIDADE CATÓLICA DE PELOTAS PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM SAÚDE E COMPORTAMENTO

CONSENTIMENTO INFORMADO PARA PARTICIPANTES DA PESQUISA SOBRE ESTUDO SOBRE SAÚDE E COMPORTAMENTO DE MULHERES NO PERÍODO PRÉ E PÓS-PARTO E DESENVOLVIMENTO INFANTIL.

A pesquisa que estamos lhe convidando a participar tem como objetivo medir os sintomas depressivos, ansiosos e fatores que possam estar associados aos mesmos em gestantes e puérperas, ainda se propõe a avaliar os níveis de bem-estar; auto-estima e qualidade de vida.

Se você aceitar fazer parte deste estudo, terá que responder a um questionário que será aplicado por nossas pesquisadoras. A senhora será procurada por nossa equipe, novamente, entre 45 a 90 dias após o parto e quando seu bebê estiver com 4 meses de idade; sendo que nesta ocasião o desenvolvimento da criança também será avaliado.

Os dados fornecidos por você durante a aplicação dos questionários serão utilizados posteriormente para análise e produção científica, entretanto, a equipe envolvida na pesquisa garante que a sua identidade permanecerá em sigilo, tendo em vista a manutenção de sua privacidade e a de sua família.

É importante assinalar que esta pesquisa não apresenta risco significativo ao seu estado de saúde, nem do seu bebê, mas permitirá a identificação de sinais para alguns problemas de ordem psicológica. Se os instrumentos aplicados detectarem sintomas depressivos e ansiosos elevados, você será encaminhada para atendimento psiquiátrico no Ambulatório do Campus II da Saúde da UCPel. Caso seja identificado algum atraso no desenvolvimento do seu filho, aos quatro meses, ele será encaminhado para atendimento na Clínica Fisioterapia da UCPel. Em caso de constatação de abuso ou dependência de bebidas alcoólicas ou outras substâncias, será encaminhada para atendimento no devido local da rede pública de saúde.

Você é livre para abandonar o estudo em qualquer momento e sem maiores prejuízos ou danos.

Em caso de dúvidas sobre o estudo, maiores informações poderão ser obtidas com os psicólogos coordenadores do projeto, através dos números (053)8118-2197 ou (053) 8113-2049, ou no Mestrado em Saúde e Comportamento (2128-8404).

Declaração da Cliente:

Eu, _____, declaro que após tomar conhecimento destas informações, aceito participar da presente pesquisa. Além disso, declaro ter recebido uma cópia deste consentimento e que uma cópia assinada por mim será mantida pela equipe da pesquisa.

Declaração de Responsabilidade do Investigador:

Eu, _____, declaro ter explicado sobre a natureza deste estudo, assim como também me coloquei a disposição da cliente para esclarecer as suas dúvidas. A cliente compreendeu a explicação e deu seu consentimento.

Investigador responsável: _____

Data: ____/____/____

Fase do estudo: _____

ANEXO 6.9
ENCAMINHAMENTOS

Encaminhamentos

ESTUDO SOBRE SAÚDE E COMPORTAMENTO DE MULHERES NO
PERÍODO PRÉ E PÓS-PARTO E DESENVOLVIMENTO INFANTIL.

ENCAMINHAMENTO AO PSQUIATRA

Pelotas, ___ de _____ de 200 ___.

Eu, _____, declaro ter recebido informações sobre o meu risco de vida, e por isso fui encaminhada para atendimento psiquiátrico no Campus II da Saúde (antigo hospital Olivé Leite), localizado na Av. Fernando Osório, nº 1586.

Assinatura da paciente

Assinatura da pesquisadora

ESTUDO SOBRE SAÚDE E COMPORTAMENTO DE MULHERES NO
PERÍODO PRÉ E PÓS-PARTO E DESENVOLVIMENTO INFANTIL.

ENCAMINHAMENTO AO FISIOTERAPEUTA

Pelotas, ___ de _____ de 200 ___.

Eu, _____, declaro ter recebido informações sobre um indicativo de atraso no desenvolvimento do (a) _____, e por este motivo fui encaminhada para avaliação na Clínica de fisioterapia UCPel, localizada na Av. Fernando Osório, nº 1586.

Assinatura da mãe ou responsável

Assinatura da pesquisadora

PARTE II – ARTIGOS

Artigo 1: BDNF levels in women with postpartum affective disorder and suicidality

Revista: Acta Psychiatrica Scandinavica

BDNF levels in women with postpartum affective disorder and suicidality

BDNF, postpartum mood and suicidality

Abstract

Aims

To investigate serum brain-derived neurotrophic factor (BDNF) levels in postpartum affective disorder (PPAD) women who were at risk for postpartum suicide.

Methods

A cross-sectional study was carried out with women between 45 to 90 days after delivery. PPAD (depression, manic and mixed episode) and suicide risk were assessed using the Mini International Neuropsychiatric Interview (MINI). BDNF was assessed using a commercial ELISA kit. Linear regression and *Poisson* regression were used for multivariate analyses.

Results

A hundred ninety women participated in the study, 15.3% had PPADs, 7.4% showed PPAD with suicide risk. BDNF levels were lower in subjects with three or more Stressful Life Events ($p=0.01$). The serum BDNF levels of women with PPADs presenting suicide risk were significantly lower than those of women without suicide risk (1.50 ± 1.38 ng/ml and 2.33 ± 1.28 ng/ml, $p=0.02$). In the adjusted *Poisson* regression PPAD and suicidality showed a risk of 10.73(CI 2.09 to 55.03) for lower serum BDNF levels.

Conclusions

Clinicians should enquire postpartum women about their history of stressful life events, PPAD, and suicidality. This study shows the potential role of BDNF in the neurobiology of association of PPAD and suicidality. This may contribute in psychiatryclinical decisions.

Significant outcomes:

1. The BDNF levels are significantly low only in those women with PPAD and suicidality.
2. There were no difference, in this sample, between the BDNF levels and the different types of PPAD episodes (depression, mania, mixed) when associated with suicidality.
3. Stressful life events on gestational period were associated with low levels of BDNF in postpartum.

Limitations

1. The cross-sectional design, in which BDNF is measured at one time point, limits inferences about causality
2. Low statistical power unable us to make adequate generalizations to other disorders beyond PPAD in association with suicidality in this sample.
3. No specific biological measure of stress was used.

Keywords: postpartum affective disorder, suicidality, serum brain-derived neurotrophic factor (BDNF)

Introduction

The postpartum period is a time of increased risk of new-onset psychiatric illness for new mothers, and the most serious consequence of this risk is a corresponding high risk of infanticide and suicide in women presenting postpartum affective disorders¹. Moreover, it has been proposed that the cumulative impact of several factors, including stressful life events (SLEs), may play a role in the incidence of postpartum affective disorders (PPADs)². PPADs are an important public health concern, particularly when it involves suicide attempts³. Prevalence of high suicide risk have varied from 4% to more than 15%⁴. Indeed, we have demonstrated that postpartum women with depression have an increased risk of suicidality, which is a behavior or attitude that suggests suicidal ideation³.

The neurochemical mechanisms involved in suicidality are complex, but the putative role of neurotrophins has consistently been considered. Reduced brain-derived neurotrophic factor (BDNF) expression has been implicated in the neurobiology of stress and affective disorders, which are contributory factors in suicidal behavior^{2,5,6,7}.

Moreover, lower BDNF expression in the blood samples of individuals with suicidal risk⁸) and in the *postmortem* brain tissue of people who committed suicide support the belief that the brain modulatory functions exerted by this neurotrophin could be disrupted and could affect suicide behavior^{9,10,11}. Overall, BDNF expression is often reduced in humans with neuropsychiatric disorders and in animal models of neuropsychiatric disorders^{5,12,13}. Although this evidence suggests that BDNF might play an integrative role in the neurobiological basis of neuropsychiatric disorders, its involvement in PPADs has received little attention.

The main objective of this work was to understand the neuropsychiatric and biological factors that contribute to the risk of suicidal behavior in postpartum period. Thus, we

investigated whether serum BDNF levels are different in women who were at risk for postpartum suicide or who experienced SLEs during pregnancy.

Material and methods

A cross-sectional study was carried out in 2008 from May to October with pregnant women who were recruited from the Brazilian National System of Public Health in Pelotas a southern Brazilian city. These women were engaged in prenatal follow-up, and the inclusion criteria included the following: more than 18 years old, living in the urban area, not taking antidepressants and capable of understanding and completing the neuropsychiatric questionnaires in postpartum. Between 45 to 90 days after delivery, women were re-interviewed at home and provided blood for BDNF assessment. All subjects answered a confidential self-administered questionnaire, which included questions about socioeconomic conditions, age, previous psychiatry treatment, use of psychoactive drugs in the past, previous suicide attempt, smoking habits, alcohol consumption, living with the father and type of delivery.

PPADs (depression, manic and mixed episode) and Anxiety Disorders (obsessive compulsive, generalized anxiety, panic, social phobia and posttraumatic stress) were assessed using the Mini International Neuropsychiatric Interview (MINI Portuguese - version 5.0 Plus)¹⁴. MINI is a short structured interview that is compatible with the DSM-IV criteria. It was created a dichotomic variable for PPAD (to have any PPAD or not), as well as, for anxiety (to have any anxiety disorder or not). The suicidality section of the MINI was used to obtain data concerning behavior. This section consists in five questions about suicide thoughts and suicide behavior in the last month, and one question about lifetime suicide attempts. Furthermore, the MINI enables a risk stratification of suicide behavior, with severity range of low, moderate and high, according to the scoring of each question as follow: 1) Have you

wished you were dead? (1 point); 2) Have you wanted to harm yourself? (2 points); 3) Have you thought of committing suicide? (6 points); 4) Have you planned how to commit suicide? (10 points); 5) Have you attempted suicide? (10 points), and 6) Have you ever attempted suicide? (4 points). Suicide risk status was defined as “low” when the scores range from 1-5 points, “moderate” when the scores were 6-9 points and “high” when the scores were equal or above 10 points. For this research we choose to consider suicide risk only for those women who had moderate or high risk. Regarding risk scores were dichotomized as absent (low or absent) or present (moderate or high risk). Thus, suicidality is defined to include thoughts of death or self-harm and suicide attempts in the last month, as measured by the MINI. After, a dichotomic variable for association of PPAD and suicidality was created.

SLEs were assessed by six questions obtained from the life events and coping scales¹⁵. The women were questioned in postpartum period about the following issues during the gestational period: the death of someone in the family, grave sickness, a change of address, unemployment, disengagement, and the risk of abortion.

Peripheral venous blood samples (5 ml) were collected in anticoagulant-free tubes (vacutainer system) from all subjects between 08:00 and 10:00 pm. The samples were immediately centrifuged at 5,000 x *g* for 10 min, and the serum was stored at - 80°C until analysis. The serum levels of BDNF were measured using a commercially available enzyme immunoassay kit (DuoSet ELISA Development, R&D Systems Inc., USA). The amount of BDNF was then determined by measuring the absorbance at 450 nm with a SpectraMax M5 (Molecular Devices, USA). All samples and standards were measured in duplicate, and the coefficient of variation was less than 5%. The serum BDNF levels are expressed as ng/ml.

The data were double-entered into an Epi Info 6.04d software with an internal consistency check. Statistical analyses were performed using the Stata Statistical Package, version 9. Descriptive statistics are used to report the socio-demographic and clinical

characteristics of the sample, as well as make comparisons between means (Variance Analysis) to find associations with the BDNF levels. Variables were created at the tenth percentile (10% lower risk) for BDNF to survey the risk and at the ninetieth percentile (10% higher risk) for SLEs; both of these were dichotomic variables.

Linear regression (to evaluated BDNF as a continuous variable) and *Poisson* regression (to evaluated BDNF as a dichotomic variable) adjusted analyses were performed. In the adjusted analysis, Poisson regression was used to evaluate the prevalence ratio of the independent variables associated with the outcome (BDNF tenth percentile). All variables with a p-value ≤ 0.2 , when associated with exposition and outcome, were included in both regressions. We considered associations with a p-value ≤ 0.05 to be statistically significant.

This work was approved by the Catholic University of Pelotas (UCPel) Ethics Committee 2008/30-2007/29 CONEP 44/2008-reg14253. The subjects provided written informed consent to participate in this study. The women with detected psychiatry disorders were referred to the Psychiatry Service at the UCPel.

Results

A total of 190 women participated in the study. Distribution of the sample, mean BDNF levels according to demographic, socioeconomic, obstetric and behavior variables are shown in table 1.

Postpartum affective disorders (PPADs) were found in 15.3% (n=29) of women: 3.7% had unipolar depression, 4.7% experienced mania or hypomania, 6.8% mixed episodes. Anxiety Disorders was presented by 13.6% of mothers. Suicide risk was exhibit in 9.5% (n=18) of women, 7.4% (n=14) with PPAD and 2.1% (n=4) with only anxiety disorders. Twelve patients (6.3%) had a lifetime suicide attempt. Twenty nine (15.3%) had some previous psychiatry treatment. Three or more SLEs were found in 12.6% of the whole group.

In the whole group the mean BDNF level was 2.26 ± 1.32 ng/ml, in PPAD group was 2.08 ± 1.32 ng/ml, of suicidality was 1.56 ± 1.36 ng/ml and the mean of BDNF levels in women without suicide risk were 2.33 ± 1.30 ng/ml. Women with PPAD and suicidality had mean BDNF levels of 1.50 ± 1.38 ng/ml. Mothers who experienced two or less SLEs had mean serum BDNF levels of 2.33 ± 1.30 ng/ml and those who experienced three or more SLEs of 1.64 ± 1.43 ng/ml (table 1).

In bivariate analysis there is no association between PPAD subjects without suicide risk and BDNF levels (2.14 ± 1.40 ng/ml; $F=0.44$, $p=0.506$). Lower BDNF levels were associated with suicide risk ($p=0.02$). The serum BDNF levels in those women with PPADs presenting suicide risk ($n=14$) were significantly lower than in those women without suicide risk ($F=5.02$, $p=0.02$) (Figure 1A). The serum BDNF levels in PPAD and with suicide risk and depression, mania and mixed episodes were 1.68 ± 1.50 ng/ml, 1.46 ± 1.67 ng/ml and 1.39 ± 1.65 ng/ml, respectively (Figure 1B).

There were no significant differences in the serum BDNF levels in women with PPADs presenting suicide risk according to their particular episodes ($F= 0.101$, $P= 0.75$). There is not association between the serum BDNF levels in women with only anxiety disorders and suicide risk ($p=0.28$).

Serum BDNF levels were significantly lower in subjects with three or more SLEs (90th percentile) (1.64 ± 1.43 ng/ml) compared to those with two or less SLEs (2.33 ± 1.30 ng/ml, $F= 5.64$, $p= 0.019$) (Figure 1C).

Table 2 shows Multivariate Analysis of data obtained from the Linear and *Poisson* regression analysis. Both the linear and Poisson regression analyses, adjusted for previous psychiatry treatment and SLEs, showed similar p -values.

We performed a regression analysis to determine which variables have the most impact on the BDNF level. After adjustment in Linear regression, for previous psychiatry

treatment and SLEs in pregnancy the BDNF levels of women with PPADs and suicidality were reduced in -0.912 (CI $-1.73 - 0.09$). In the adjusted *Poisson* regression, PPADs and suicide risk showed a risk of 10.73 (CI $2.09 - 55.03$) for lower serum BDNF level (Table 2).

Discussion

The neuropsychological and neurobiochemical changes implicated in the neurobiology of PPADs have emerged as possible biological targets for therapeutic and preventive interventions to prevent PPAD mothers from attempting suicide. In this study, we found that serum BDNF levels were significantly lower in women with PPADs presenting suicide risk compared to women without suicide risk. Additionally, women with three or more SLEs during pregnancy exhibited reduced serum BDNF levels, whereas women experiencing two SLEs did not.

Several lines of evidence suggest that BDNF may play a role in psychiatric disorders; for example, pharmacological interventions that improve psychiatric symptoms also increase BDNF expression^{9,16}. Previous studies have reported that BDNF expression was lower in subjects exposed to SLEs, in subjects experiencing affective disorders and in suicidal individuals¹⁷, but the potential implication of these events on BDNF expression in postpartum women had not yet been explored. In our study, BDNF levels were not able to discriminate PPADs (depression, manic and mixed episode) from non-PPAD women (data not shown). Similarly, Kim et al. proposed that plasma BDNF is not a good marker of major depression (an affective disorder) but is associated with an increase in suicidal behavior¹⁰. In accordance with this proposal, here we showed that lower serum BDNF levels were associated with suicide risk in PPAD women (Figure 1A). Our finding is further substantiated by previous brain postmortem studies that show significantly lower BDNF levels and reduced RNA expression of BDNF's cognate receptor tyrosine kinase B receptor in the hippocampus and

prefrontal cortices of suicide victims compared with both psychiatric patients who have not attempted suicide and control subjects^{18,19}.

Despite the high lifetime rate of suicide, most people with depression never attempt suicide. This fact raises the question as to why some people with depression are at risk for attempting suicide and others are not¹⁰. Considering that various clinical and epidemiological studies have identified stressors as an important risk factor for suicide, we additionally investigated whether SLEs during pregnancy influence BDNF levels. By regression analysis, three or more SLEs correlated with smaller differences in BDNF levels than did suicide risk (three- and eight-fold changes in risk, respectively).

However, we do not discount the clinical relevance of SLEs as a factor that influences suicidal behavior. Indeed, alterations in the stress system (particularly hyperactivation of the HPA axis) are well documented in suicide victims and in depressed suicide attempters who subsequently complete suicide. However, time between the suicide attempt and the examination could account for the differences reported in some studies^{20,21,22,23}.

Furthermore, several arguments suggest that suicidal behavior is a disorder of its own, although psychiatric disturbances (such as depression) are major contributing factors. The presence of psychopathology is a strong predictor of suicide; however, there is a certain predisposition to suicide that is independent of the main psychiatric disorders⁵. Considering the variety of psychological events and biological changes that occur during the course of a pregnancy, it is reasonable to believe that factors beyond SLEs and PPADs may be affecting BDNF levels and suicide risk. Thus, further investigation is required to determine whether the observed differences in serum BDNF levels are specifically related to either mental disorders or suicide risk during the perinatal period. Several studies have proposed that impaired structural and functional plasticity are involved in the molecular and cellular events that lead to psychiatric disorders, such as mood disorders and suicidal behavior. Support for this theory

comes from a variety of studies in major depressed/suicidal subjects that demonstrate a reduction in the cell number, density and body size, as well as the a reduction in neuronal and glial density in the frontal cortical or hippocampal brain areas. Interestingly, the functional role of BDNF is critically associated with synaptic transmission and neuroplasticity, which are disturbed in subjects with psychiatric disorders ⁵.

Acknowledgments

This work was supported by the Brazilian grants CNPq, CAPES, PRONEX- FAPERGS and FINEP IBN-Net as well as by the INCT-Excitotoxicity and Neuroprotection.

References

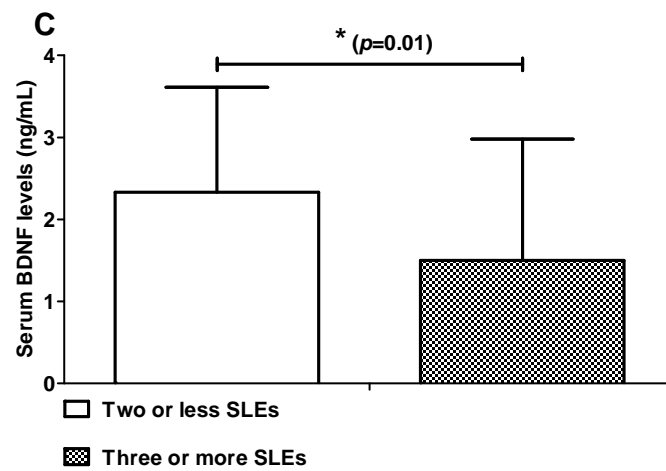
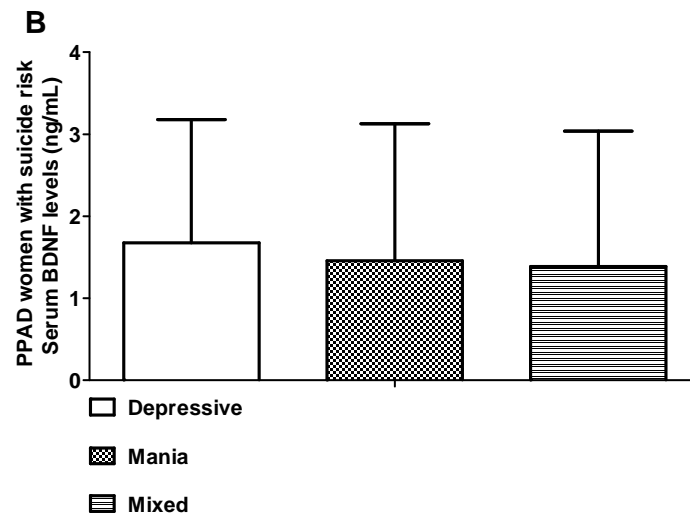
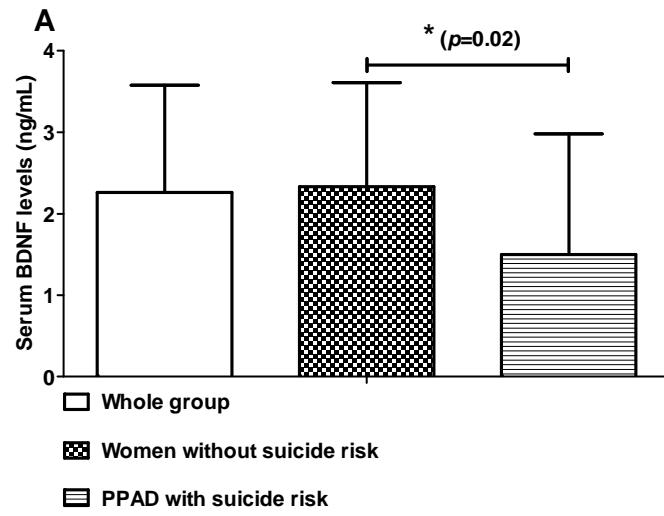
1. KELLY E, SHARMA V. Diagnosis and treatment of postpartum bipolar depression. *Expert Rev. Neurother.* 2010;10(7), 1045–1051.
2. ROT M, MATHEW SJ, CHARNEY DS. Neurobiological mechanisms in major depressive disorder. *CMAJ* 2009;3, 180–183.
3. PINHEIRO RT, DA SILVA RA, MAGALHÃES PV, HORTA BL, PINHEIRO KA. Two studies on suicidality in the postpartum. *Acta. Psychiatr. Scand.* 2008;118(2), 160–163.
4. LINDAHL V, PEARSON JL, COLPE L. Prevalence of suicidality during pregnancy and the postpartum. *Arch Womens Ment Health* 2005; 8:77–87.
5. DWIVEDI Y. Brain-derived neurotrophic factor: role in depression and suicide. *Neuropsychiatr. Dis. Treat.* 2009;5, 433–434.
6. KRISHNAN V, NESTLER EJ. The molecular neurobiology of depression. *Nature* 2008;455(7215),894–902.
7. STEIN DJ, DANIELS WMU, SAVITZ J, HARVEY BH. Brain-derived Neurotrophic Factor: Hypothesis of Psychopathology. *CNS Spectr.* 2008;13(11), 945–949.
8. TSAI SJ,. Possible involvement of the BDNF-dependent pathway in treatmentemergent suicidality or decreased response to antidepressants. *Med. Hypotheses.* 2005; 65(5), 942–946.
9. DWIVEDI Y.. Brain-derived neurotrophic factor and suicide pathogenesis. *Ann. Med.* 2010;42(2), 87–96.
10. KIM YK, LEE HP, WON SD, et al.,. Low plasma BDNF is associated with suicidal behavior in major depression. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.* 2007;31(1),78–85.

11. PANDEY GN, REN X, RIZAVI HS, CONLEY RR, ROBERTS, RC, DWIVEDI, Y., Brain-derived neurotrophic factor and tyrosine kinase B receptor signalling in post-mortem brain of teenage suicide victims. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 2008;11(8), 1047–1061.
12. GRILLO, RW, OTTONI GL, LEKE R, SOUZA, DO, PORTELA LV, LARA DR, Reduced serum BDNF levels in schizophrenic patients on clozapine or typical antipsychotics. *J. Psychiatr. Res.* 2007;41(1-2), 31–35.
13. MACHADO-VIEIRA R, DIETRICH MO, LEKE R, et al. Decreased plasma brain derived neurotrophic factor levels in unmedicated bipolar patients during manic episode. *Biol. Psychiatry* 2007;61(2), 142–144.
14. AMORIM P Mini Internacional Neuropsychiatric Interview (MINI): validação de entrevista breve para diagnóstico de transtornos mentais. *Rev. Bras. Psiquiatr.* 2000; 22(3), 106–115.
15. SAVOIA MG. Escalas de eventos vitais e de estratégias de enfrentamento (coping)/Life events and coping scales. *Rev. Psiquiatr. Clin.* 1999;26(2), 57–67.
16. CHEN B, DOWLATSHAHI D, MACQUEEN GM, WANG JF, YOUNG LT,. Increased hippocampal BDNF immunoreactivity in subjects treated with antidepressant medication. *Biol. Psychiatry* 2001;50(4), 260–265.
17. LEE BH, KIM YK. Potential peripheral biological predictors of suicidal behavior in major depressive disorder. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 2010;Aug 10. [Epub ahead of print]
18. DWIVEDI Y, RIZAVI HS, CONLEY RR, ROBERTS RC, TAMMINGA CA, PANDEY GN,. Altered gene expression of brain-derived neurotrophic factor and receptor tyrosine kinase B in postmortem brain of suicide subjects. *Arch. Gen. Psychiatry* 2003;60(8), 804–815.

19. KAREGE F, VAUDAN G, SCHWALD M, PERROUD N, LA HARPE R..
Neurotrophin levels in postmortem brains of suicide victims and the effects of
antemortem diagnosis and psychotropic drugs. *Brain Res. Mol. Brain Res.*
2005;136(1-2), 29–37.
20. LOPEZ JF, PALKOVITS M, ARATO M, MANSOUR A, AKIL H, WATSON
SJ, Localization and quantification of proopiomelanocortin mRNA and
glucocorticoid receptor mRNA in pituitaries of suicide victims.
Neuroendocrinology 1992;56, 491–501.
21. NEMEROFF CB, OWENS MJ, BISSETTE G, ANDORN AC, STANLEY M,
Reduced corticotropin releasing factor binding sites in the frontal cortex of
suicide victims. *Arch. Gen. Psychiatry* 1988; 45,577–579.
22. SZIGETHY E, CONWELL Y, FORBES NT, COX C, CAINE ED. Adrenal
weight and morphology in victims of completed suicide. *Biol. Psychiatry.*
1994;36, 374–380.
23. WESTRIN A. Stress system alterations and mood disorders in suicidal patients. A review.
Biomed e Pharmacother 2000; 54, 142-145.

Figure Captions

Figure 1 Serum BDNF levels in postpartum women. (A) BDNF levels were lower in PPAD women who showed suicide risk when compared with women without suicide risk. ($*p = 0.02$). (B) Different affective disorder symptoms in PPAD women presenting suicide risk. (C) The BDNF levels of women presenting suicide risk and three or more SLEs were lower than those of women who experienced two or less SLEs ($*p = 0.01$).



Artigo 2: Serum NGF, BDNF and IL-6 levels in postpartum mothers as predictors of infant neurobiological development: the influence of affective disorders

Revista: Biological Psychiatry

Serum NGF, BDNF and IL-6 levels in postpartum mothers as predictors of infant neurobiological development: the influence of affective disorders

ABSTRACT

Background: Early adverse experiences are associated with increased risk of developing psychiatric disorders, although little is known about the neurobiological mediators involved. The mechanisms by which early environmental influences may mediate vulnerability in the development of offspring await further investigation. The present study correlated the Neurotrophic Growth Factor (NGF), Brain Derived Neurothofic Factor (BDNF), Interleukin-6 (IL-6) and cortisol levels of mothers with postpartum affective disorders (PPAD) with infant neurobiological development.

Methods: A longitudinal study was performed with 152 pregnant women and their infants. Between 60 and 120 days after delivery, women were interviewed and provided biological samples for biochemical analysis, and the infants were examined for neurobiological-motor development.

Results: Overall, the mothers' history of affective disorders, PPAD and anxiety disorder were associated with infant motor development. Using an adjusted linear regression analysis, history of affective disorder ($p=0.147$), PPAD ($p=0.049$), maternal anxiety disorder ($p=0.043$), NGF level ($p=0.034$) and infant cortisol level ($p=0.013$) were associated with infant motor development. Using a factorial analysis of primary components, two components were restrained. The psychological factor was characterized by a positive loading of a history

of affective disorder, PPAD and anxiety disorder. For the biological factor, infant cortisol adhered negatively with infant motor development, but NGF was positively associated. The psychological factor had a negative association, but the biological factor had a positive association with infant motor development.

Conclusions: There are few studies that have focused on the relationship of biomarkers and infant neurodevelopment. Taken together, the biological and psychological components of the effects observed in this study show how these complex processes affect infant development, considering that these factors are only a single part of the developmental context.

KEY WORDS

Postpartum affective disorder, NGF, BDNF, cortisol, infant neuromotor development.

INTRODUCTION

Several studies have demonstrated the influence of the mother on infant neurobiological development (1). When the mother fails to provide adequate incentives to offspring in the first months of life, the chance of a significant loss in neurobiological and psychological development increases (2). Maternal deprivation may occur due to postpartum affective disorders (PPAD) (3). Mothers with affective disorder spend less time positively interacting with their children and show more inconsistent and ineffective child management strategies than non-depressed parents (4).

Early adverse experiences in humans are associated with increased risk for the development of psychiatric disorders, although little is known of the neurobiological mediators of this effect (5; 6; 6). Neurotrophins such as nerve growth factor (NGF) and brain-derived neurotrophic factor (BDNF), which play a fundamental role in brain function and neuroprotection and are affected by stress, are good candidates for the transduction of the effects of adverse events to changes in brain function (7; 8; 9). Interleukin (IL)-6 is a proinflammatory cytokine and an important messenger molecule in the immune system that also influences the brain and the neuroendocrine system (10).

Human data and animal studies have suggested that the relationship between the quality of early environment and emotional responding is mediated by maternal influences on brain development (11; 12; 13). The mother's modulatory function on environmental input is essential for the facilitation and inhibition of experience-dependent maturation of the child's developing biological structures, particularly neurobiological structures (14). This function influences motor development (MD) at birth and continues during the first 12 months (15; 16; 17). A study by Abbott et al. of the relationship between aspects of the household environment and children's motor development that also addresses the contribution of

multiple subsystems to the acquisition of motor skills in children suggests that an environment with greater support and more stimuli is associated with higher levels of MD in children (18). Early experiences that result in the disruption of the mother-infant relationship have long-term influences on behavioral and endocrine responses to stress (19).

The mother also plays an important role in the regulation of stress responsiveness of the offspring (19; 20). Although most research on hypothalamic-pituitary-adrenal axis (HPA) regulation during ontogeny has focused on intrinsic regulatory factors, it appears that extrinsic factors also play an important role in this regulation. In particular, maternal factors appear to disrupt the homeostasis of the infant's HPA axis (21; 22). Experiments by Denenberg in the 1960s demonstrated that the “emotional state” of the mother affected the emotional state of the offspring (23). The so-called “maternal mediation” hypothesis, first proposed in the ‘70s (24), states that changes in maternal behavior underlie the effects of early manipulations in the offspring. This hypothesis has been confirmed, and a direct relationship between variations in the level of maternal care and the development of individual differences in the behavioral and neuroendocrine responses to stress of the offspring has been described (25; 26).

The molecular mechanisms by which early environmental influences alter the circuits that may mediate the development of offspring are very complex and await proper investigation (27; 28). The goal of the present study was to correlate NGF, BDNF, IL-6 and cortisol levels in mothers and infant cortisol levels with affective disorders during the postpartum period with infant neurobiological development.

METHODS

From July to September 2008, a longitudinal study of pregnant women and their subsequent infants (i.e., dyads) was performed. The women were recruited from the Brazilian National System of Public Health in Pelotas, a southern Brazilian city. The subjects

underwent prenatal follow-up, and the inclusion criteria included the following specifications: more than 18 years old, living in the urban area, not taking antidepressants or mood regulators and capable of understanding and completing the neuropsychiatric questionnaires in the postpartum period. Between 60 to 90 days after delivery, the women were re-interviewed at home and provided blood for NGF, BDNF, and IL-6 determination and saliva for cortisol analyses. Cortisol was measured using salivary levels in both mothers and infants. In the 4th month of life, infants were evaluated for neurobiological - motor development. All women answered a confidential self-administered questionnaire that included questions about socioeconomic conditions, age, previous psychiatric treatment, use of psychoactive drugs in the past, previous suicide attempts, smoking habits, alcohol consumption, living with the father and the type of delivery.

PPADs (depression, hypomanic/manic and mixed episode) and anxiety disorders were assessed using the Mini International Neuropsychiatric Interview (MINI Portuguese - version 5.0 Plus) (29). MINI is a short structured interview that is compatible with DSM-IV criteria. It establishes a dichotomic variable for the presence or absence of PPAD.

Stressful life events (SLEs) were assessed by means of six questions obtained from life events and coping scales (30). The women were questioned in the postpartum period about the following issues during the gestational period: the death of someone in the family, grave sickness, a change of address, unemployment, disengagement and the risk of abortion.

The Alberta Infant Motor Scale (AIMS) was used to evaluate the infants' neurobiological -motor development (31). The AIMS, which is an observational assessment scale, is designed to measure gross motor maturation in infants from birth through independent walking (18 months). Based on the literature, 58 items were generated and organized into four positions: prone, supine, sitting and standing. Each item describes three aspects of motor performance: weight-bearing, posture and antigravity movements. Each

participant's raw score was obtained by adding the scores of each scale. The raw scores and the ages of the infants were displayed in a graph in order to identify the percentile of infant neurobiological - motor development. In this study, we used the AIMS score for analysis. Three experienced physiotherapists who were blinded for the outcomes applied the AIMS testing. A concordance analysis was performed at the beginning and in the middle of the measurements.

Peripheral venous blood samples (5 ml) were collected in anticoagulant-free tubes (*vacutainer* system) from all subjects between 08:00 and 10:00 p.m. The samples were immediately centrifuged at 5,000 x g for 10 min, and the serum was stored at -80°C until analysis. Serum levels of NGF, BDNF and IL-6 were measured using a commercially available enzyme immunoassay kit (DuoSet ELISA Development, R&D Systems Inc., USA). The amount of BDNF, NGF and IL-6 was determined by measuring the absorbance at 450 nm with a SpectraMax M5 spectrophotometer (Molecular Devices, USA). All samples and standards were measured in duplicate, and the coefficient of variation was less than 5% (Haas et al., 2010). The serum NGF, BDNF and IL-6 levels are expressed as ng/ml.

Saliva samples (1 ml) were collected in sterile microtubes from all subjects between 08:00 and 10:00 p.m. The samples were immediately centrifuged at 5,000 x g for 10 min, and the supernatant was stored at -80°C until analysis. Salivary cortisol was measured in duplicate samples with a commercially available High Sensitivity Salivary Cortisol enzyme immunoassay kit (Salimetrics®, USA). The amount of cortisol was determined by measuring the absorbance at 450 nm as described above. All samples and standards were measured in duplicate, and the coefficient of variation was less than 5%. The salivary cortisol levels are expressed as µg/dl.

Data was double-entered into an Epi Info 6.04d software application, and an internal consistency check was conducted. Statistical analyses were performed using the Stata

Statistical Package, version 9. Descriptive statistics were used to report the socio-demographic information. Clinical characteristics of the sample used to assess infant neurobiological - motor development (i.e., the AIMS Score) were analyzed using one-way ANOVA. Bonferroni correction and correlations within the AIMS scores and biological markers was analyzed using a Spearman correlation. The Spearman correlation was used because the distribution of biomarkers does not fill the requirements of kurtosis and skewness to normal variables. The variables included in bivariate analyses were as follows: in the first level, social class, maternal age, type of delivery, infant sex, prematurity, birth weight, smoking, alcohol consumed in last year; in the second level, history of affective disorders, postpartum affective disorder (PPAD), type of PPAD episode, mother anxiety disorder, mother BDNF level, mother NGF level, IL-6 level, mother and infant cortisol levels. Linear regression of infant neurobiological - motor development (i.e., the AIMS Score) was used for all variables with a p-value ≤ 0.2 when associated with exposition and outcome. We considered associations with a p-value ≤ 0.05 to be statistically significant. Furthermore, to determine the grouping of the associated factors with infant motor development, we conducted an exploratory factorial analysis. The extraction method was Primary Component Analysis (PCA). The *varimax* rotation was used to facilitate the data interpretation, retaining independence of the factors. Only the variables that had statistical significance in the regression analysis were included. Factorial loadings greater than or equal to 0.3 were used to establish the factor to which each variable adhered. The Kaiser-Meyer-Olkin (KMO) test was conducted to verify sample adequacy in relation to the factorial analysis of primary components, which was adequate when greater than or equal to 0.5. In the same direction, Bartlett's test of sphericity was performed and was considered significant when less than 0.05.

Finally, to obtain a fuller comprehension of the results, we performed another linear regression analysis with the generated factor scores in PCA.

This work was approved by the Catholic University of Pelotas (UCPel) Ethics Committee 2008/30-2007/29 CONEP 44/2008-reg14253. The subjects provided written informed consent to their participation in this study. The women with detected psychiatric disorders were referred to the Psychiatry Service at the UCPel. Infants with low motor development were referred to the UCPel physiotherapy clinic.

RESULTS

A total of 160 women and their offspring were identified in the defined period; 5% of the women in the study did not allow their children to be evaluated. The mean age of the women was 24.51 ± 6.09 years, and most of them (55.26%) belonged to a low socio-economic class. A majority of the participants (82.8%) were living with the baby's father. During pregnancy, 22.9% of the women smoked at least 1 cigarette/day, and 34.9% had consumed alcohol within the last month. Exclusive breast feeding, at least in the first month, was observed in 90.1%. During the postpartum evaluation, unipolar depression was measured in 4.6% of the women, mania or hypomania in 5.2% and mixed episodes in 5.2%. The overall prevalence of PPAD was 15.1%; of the women affected, 60.86% had a history of affective disorder during the gestational period. Some (8.69%) had more than one previous episode and had used medication in the past. Age, smoking, alcohol consumption, living with the father of the baby, social class, type of delivery, breast feeding, prematurity, birth weight and stressful life events were not associated with infant motor development. History of affective disorders, PPAD and anxiety disorder were associated with infant motor development. The biomarkers associated with infant motor development were the NGF levels of the mothers and the cortisol levels of the infants. The mothers' BDNF, IL-6 and cortisol levels were not associated with infant MD (data shown in Table 1).

A correlation within the biomarkers was conducted. IL-6 and NGF had a positive correlation ($r=0.575$; $p=0.001$), and NGF had a positive correlation with infant motor development ($r=0.207$; $p=0.026$). IL-6 did not have a direct correlation with infant motor development ($r=0.040$; $p=0.663$). Nevertheless, NGF had a negative correlation with infant cortisol levels ($r=-0.147$; $p=0.054$). Breastfeeding for at least one month had a positive correlation with NGF ($r=0.194$; $p=0.037$) but was not associated with infant motor development ($p=0.290$) or with PPAD ($p=0.111$).

In an adjusted linear regression analysis performed with the variables that remained in the model ($p<0.2$), a history of affective disorder ($p=0.147$), PPAD ($p=0.049$), mother anxiety disorder ($p=0.043$), NGF levels ($p=0.034$) and infant cortisol levels ($p=0.013$) were associated with infant motor development (Table 2).

Figure 1 shows a primary component analysis (PCA). Bartlett's test was highly significant ($p=0.001$) with a KMO of 0.63, indicating the validity of performing the analysis. In a factorial analysis of primary components, two components were restrained. The explanation of the total data variance was 65.39%. Values with a load above 0.3 demonstrated with which factor each component adhered. We have designated Factor 1 as the psychological factor; this factor was characterized by the positive loading of a history of affective disorder, PPAD and anxiety disorder and explained 43.91% of the variance. In factor 2, which we call the biological factor, the components that adhered were infant cortisol level and NGF level; these explained 21.48% of the variance. Infant cortisol adhered negatively, but NGF adhered positively.

Table 3 shows the results of subjecting the score factors from the PCA to regression analysis. The psychological factor had a negative association, but the biological factor had a positive association with infant motor development.

DISCUSSION

This study hypothesizes two distinct dimensions that represent the bases of infant neurobiological – motor development. The restrained factors – psychological and biological – explained 65.3% of the variance. This result is consistent with the results of other studies that have pointed to the importance of psychiatric illness in mothers and of biochemical influences on infant neurobiological development (1; 8; 9; 10). Although this study is limited by the fact that the components observed here represent only a subset of the psychological and biological aspects involved in the process of infant motor development, the consistency of the findings of this study must be considered.

Similar to the findings of previous studies (4), the mothers in our sample with a history of affective disorder, PPAD or anxiety disorder tended to have offspring with low motor development. In the original experiments by Denenberg and colleagues, it was clearly shown that the mother-infant relationship had decisive effects on infant development. In particular, the “emotional state” of the mother affected the offspring (23). The mother’s psychological sickness interferes with her ability to take care of the infant (32). In other words, healthy mothers are more capable of becoming involved with their offspring and providing an appropriate emotional environment. The healthy mothers in our study had increased levels of NGF, and we observed an association with better infant motor development. These results may possibly be explained by the study about falling in love from Emanuele (33). According to his findings, NGF levels are significantly higher in subjects in love. His study suggests that elevated NGF levels may be related to specific emotions, such as intensely focused attention on a preferred individual, emotional dependency on and craving for emotional union with this beloved, and euphoria and increased energy to maintain the relationship. Our results could be hypothetically explained by considering that the mother-infant relationship is a love

relationship and that when the mother is capable of falling in love with her offspring, this infant will have better development.

The importance of early affective interactions in development, although already described in the work of Freud and other pioneers of the study of development, has been given specific attention only in recent years (32; 34). Although the theory of love has been little exploited and is still incomplete (33), it is possible that certain aspects of the mother-infant relationship might be explained by changes in levels of oxytocin. This hormone has been called an attachment hormone because of its relationship to maternal bonding (Figueredo, 2003). Several studies have found that higher levels of this hormone are associated with better maternal bonding (35; 36). In our study, we did not analyze oxytocin levels. However, associations of oxytocin and NGF levels have been reported. Luppi has pointed out that the high levels of oxytocin present during labor and lactation can increase NGF levels in animal models (37).

The NGF levels of the subjects in this study contrast with data collected in other studies and suggest that different emotional states might be associated with changes in NGF levels. (38). In preclinical studies that model early adversity, maternal separation stress affects the levels of NGF, BDNF and cortisol in the limbic areas of offspring and produces long-lasting changes in emotional behavior and impaired responses to stress, suggesting that these neurotrophins may participate in the mechanism that underlies social bonding (39; 40; 41; 42; 43;). The fact that we did not collect blood samples from the infants is a limitation of our study.

We observed no association of maternal BDNF levels with PPAD or infant motor development or of maternal NGF levels with PPAD. This may be because the PPAD in the mothers of our sample was at an early stage. Kauer-Santana et al. found that neurotrophin levels were decreased only in the late stage of affective disorders (44). Moreover, the

methodological design of the present study may have prevented us from drawing conclusions regarding the role of neurotrophins and PPAD. The established relationship between increased levels of NGF and better scores for motor development suggests that mothers who were capable of responding to a stressful situation such as gestation, delivery and/or child-rearing had elevated NGF levels in response to a crisis and, as a result, were ready to get involved with their children. In our sample, maternal NGF levels were negatively correlated with infant cortisol levels; this observation corroborates the hypothesis of an adequate response of healthy mothers. However, mothers with PPAD showed lower NGF levels, and their offspring had higher cortisol levels and poorer motor development. In a study conducted in southern Brazil, Motta et al. demonstrated that the cortisol levels of infants whose mothers had affective disorder were significantly higher than those of controls; this shows that the functioning of the HPA axis is increased in the infants of mothers with affective disorder (45). Carlson & Earls observed the motor development of infants between 2 and 9 months of age. They pointed out that, compared to infants who lived with parents, institutionalized children had poorer neuromotor development. The morning cortisol levels of all the children in their study showed an inverse correlation with motor and mental development as measured by the Bayley scale (46).

Few studies have focused on the relationship of neurotrophins and infant neurodevelopment (32). Rather than a simple interface, this relationship is likely to be a complex one in which various aspects are correlated and influence each other. Until now, the genesis of this matter and how much one component influences another has been unknown.

Studies on the relationship between neurotrophins and their receptors and effects are being conducted, but a great deal of the information that has emerged from these studies remains to be interpreted. One must look beyond the specific cascade that is being activated (47). The factors studied in the present work are markers, and use of these markers alone does

not provide an adequate means of evaluating psychological illness and its repercussions on infants. Taken together, the biological and psychological components described in the present study provide a more realistic idea of how the complex process of infant development occurs, considering that individual neurobiological factors are only a single part of the developmental context.

ACKNOWLEDGMENTS

This work was supported by the Brazilian grants CNPq, CAPES, PRONEX-FAPERGS and FINEP IBN-Net and by the INCT-Excitotoxicity and Neuroprotection.

REFERENCES

1. Glasser, D. (2000): Child abuse and neglect and the brain A review. *J. Child. Psychol. Psychiat.* 97:116-141.
2. Bear, MF; Connors, BW e Paradiso, MA. (2001): *Neuroscience: exploring the brain*. 3rd ed. New York, NY: Lippincott Williams e Wilkins.
3. Field, T. (1998): Early interventions for infants of depressed mothers. *Pediatrics* 1305-1310.
4. Pinheiro KAT, Pinheiro RT, Silva RA, Coelho FMC, Quevedo LA, Godoy RV, et al. (2011): Chronicity and severity of maternal postpartum depression and infant sleep disorders: A population-based cohort study in southern Brazil. *Infant Behavior and Development*, doi:10.1016/j.infbbeh.2010.12.006
5. Heim C, Nemeroff CB. (2001): The role of childhood trauma in the neurobiology of mood and anxiety disorders: preclinical and clinical studies. *Biol Psychiatry* 49:1023–1039.
6. Kaufman J, Plotsky PM, Nemeroff CB, Charney DS. (2000): Effects of early adverse experiences on brain structure and function: clinical implications. *Biol Psychiatry* 48:778–790.
7. McEwen BS. (2000): Effects of adverse experiences for brain structure and function. *Biol Psychiatry* 48:721–731.
8. Duman RS, Heninger GR, Nestler EJ. (1997): A molecular and cellular theory of depression. *Arch Gen Psychiatry* 54:597–606.
9. Smith MA, Makino S, Kvetnansky R, Post RM. (1995): Effects of stress on neurotrophic factor expression in the rat brain. *Ann N Y Acad Sci* 771:234–239.
10. Thoenen H. (1995): Neurotrophins and neuronal plasticity. *Science* 270:593–598.
11. Steinman L. (2004): Elaborate interactions between the immune and nervous systems. *Nat Immunol* 5: 575–581.

12. Trevarthen C, Aitken KJ. Infant intersubjectivity: research, theory, and clinical applications. *J Child Psychol Psychiatry* 42:3–48.
13. Schore AN. (2000): Attachment and the regulation of the right brain. *Attach Hum Dev* 2:23–47.
14. Tronick, E.; Weinberg, M. (1997): Depressed mothers and infants: failure to form dyadic states of consciousness. In: Murray, L.; C, PJ., editors. *Postpartum depression and child development*. Guilford, NY: 54-81.
15. Santos DCC, Tolocka RE, Carvalho J, Heringer LRC, Almeida CM, Miquelote AF. (2009): Desempenho motor grosso e sua associação com fatores neonatais, familiares e de exposição à creche em crianças até três anos de idade. *Rev Bras Fisioter.* 13(2): 173-179.
16. Grantham-McGregor S, Cheung YB, Cueto S, Glewwe P, Richter L, Strupp B. (2007): Developmental potential in the first 5 years for children in developing countries. *Lancet* 369:60-70.
17. Halpern R, Giugliani ERJ, Victora CG, Barros FC, Horta BL. (2000): Fatores de risco para suspeita de atraso no desenvolvimento neuropsicomotor aos 12 meses de vida. *J Pediatr (Rio J)* 76(6):421-8.
18. Abbott AL, Bartlett DJ, Fanning JEK, Kramer J. (2000): Infant motor development and aspects of the home environment. *Pediatr Phys Ther.* 12:62-67.
19. Levine S. (2005): Developmental determinants of sensitivity and resistance to stress. *Psychoneuroendocrinology* 30:939–946.
20. Walker CD, Perrin M, Vale W, Rivier C. (1986): Ontogeny of the stress response in the rat: role of the pituitary and the hypothalamus. *Endocrinology* 118:1445–1451.

21. Rosenfeld P, Suchecki D, Levine S. (1992): Multifactorial regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis during development. *Neurosci Biobehav Rev* 16:553–568.
22. Sapolsky RM, Meaney MJ. (1986): Maturation of the adrenocortical stress response: neuroendocrine control mechanisms and the stress hyporesponsive period. *Brain Res* 396:64–76.
23. Denenberg VH, Brumaghim JT, Haltmeyer GC, Zarrow MX. (1967): Increased adrenocortical activity in the neonatal rat following handling. *Endocrinology* 81:1047–1052.
24. Smotherman WP, Bell RW, Starzec J, Elias J, Zachman TA. (1974): Maternal responses to infant vocalizations and olfactory cues in rats and mice. *Behav Biol* 12:55–66.
25. Meaney MJ. (2001): Maternal care, gene expression, and the transmission of individual differences in stress reactivity across generations. *Ann Rev Neurosci* 24:1161–1192.
26. Pryce CR, Bettschen D, Feldon J. (2001): Comparison of the effects of early handling and early deprivation on maternal care in the rat. *Dev Psychobiol* 38:239–251.
27. McEwen BS. (2007): Physiology and neurobiology of stress and adaptation: central role of the brain. *Physiol Rev* 87:873–904.
28. Heim C, Nemeroff CB. (1999): The impact of early adverse experiences on brain systems involved in the pathophysiology of anxiety and affective disorders. *Biol Psychiatry* 46:1509–1522.
29. Amorim P. (2000): Mini Internacional Neuropsychiatric Interview (MINI): validação de entrevista breve para diagnóstico de transtornos mentais. *Rev. Bras. Psiquiatr.* 22(3), 106–115.
30. Savoia, M.G., (1999): Escalas de eventos vitais e de estratégias de enfrentamento (coping)/Life events and coping scales. *Rev. Psiquiatr. Clin.* 26(2), 57–67.
31. Piper MC, Pinnel LE, Darrah J, Magiure T, Byrne PJ. (1992): Construction and validation of the Alberta Infant Motor Scale (AIMS). *Can J Public Health.* 83(2): 46-50.

- 32.Cirulli F, Francia N, Berry A, Aloe L, Alleva E, Suomi SJ. (2009): Early life stress as a risk factor for mental health: Role of neurotrophins from rodents to non-human primates. *Neurosci Biobehav Rev.* 33(4):573-85.
- 33.Emanuele E, Politi P, Bianchi M, Minoreti P, Bertona M, Geroldi D. (2006): Raised plasma nerve growth factor levels associated with early-stage romantic Love. *Psychoneuroendocrinology.* 31: 288-94.
- 34.Rutter M. (1998): Development catch-up, and deficit following adoption after severe global early privation. English and Romanian adoptees (ERA) Study Team. *J Child Psycho Psychiatry.* 39: 465-76.
- 35.Klaus MH, Kennell JH, Klaus PH. (2000): *Vinculo: Construindo as bases para um apego seguro e para a independência.* Porto Alegre, RS: Artes Medicas Editora.
- 36.Hazan C, Zeifman D. (1999): *Pair bonds as attachments: Evaluating the evidence.* En J. Cassidy e P.R. Shaver (eds), *Handbook of Attachment.* New York, NY: Guilford Press.
- 37.Luppi P, Levi-Montalcini R, Bracci-Laudiero L, Bertolini A, Arletti R, Tavernari D, et al. (1993): NGF is released into plasma during human pregnancy: an oxytocin-mediated response? *Neuroreport.* 4(8):1063-5.
- 38.Sen S, Duman R, Sanacora G. (2008): Serum Brain-Derived Neurotrophic Factor, Depression, and Antidepressant Medications: Meta-Analyses and Implications. *Biol Psychiatry.* 64(6):527-532.
- 39.Cirulli F, Alleva E, Antonelli A, Aloe L. (2000): NGF expression in the developing rat brain: effects of maternal separation. *Brain Res Dev Brain Res* 123:129–134.
- 40.Plotsky PM, Meaney MJ. (1993): Early, postnatal experience alters hypothalamic corticotropin-releasing factor (CRF) mRNA, median eminence CRF content and stress-induced release in adult rats. *Brain Res Mol Brain Res* 18:195–200.

41. Meaney MJ. (2001): Maternal care, gene expression, and the transmission of individual differences in stress reactivity across generations. *Ann Rev Neurosci* 24:1161–1192.
42. Roceri M, Cirulli F, Pessina C, Peretto P, Racagni G, Riva MA. (2004): Postnatal repeated maternal deprivation produces age-dependent changes of brain-derived neurotrophic factor expression in selected rat brain regions. *Biol Psychiatry* 55:708–714.
43. Cirulli F, Capone F, Bonsignore LT, Aloe L, Alleva E. (2007): Early behavioural enrichment in the form of handling renders mouse pups unresponsive to anxiolytic drugs and increases NGF levels in the hippocampus. *Behav Brain Res* 178:208–215.
44. Kauer-Sant`Anna M, Kapczinski F, Andreazza AC, Bond DJ, Lam RW, Young LT, Yatham LN. (2009): Brain-derived neurotrophic factor and inflammatory markers in patients with early- vs. late-stage bipolar disorder. *Int J Neuropsychopharmacol*. 12(4):447-58.
45. Motta MG, Lucion AB, Manfro GS. (2005): Efeitos da depressão materna no desenvolvimento e psicológico da criança. *Rev Psiquiatr RS* 27(2): 165-176.
46. Carlson M, Earls F. (1997): Psychological and neuroendocrinological sequelae of early social deprivation in institutionalized children in Romania. *Ann NY Acad Sci*. 807: 419-428.
47. Daban C, Vieta E, Mackin P, Young AH. (2005): Hypothalamic-pituitary-adrenal Axis and Bipolar Disorder. *Psychiatr Clin N Am*. 28: 469-480.

Table 1

Sample characteristics according to infant neurobiological - motor development (AIMS Score)

Characteristics	N(%) Mean (\pm SD)	AIMS SCORE	p-value
Social class #			
A and B	15 (9.86%)	19.30 (\pm 3.74)	0.533
C	84 (55.26%)	19.43 (\pm 4.07)	
D and E	53 (34.86%)	19.94 (\pm 3.66)	
Maternal age (in complete years of life) #			
Less than 24 years old	83 (54.60%)	19.50 (3.93)	0.425
24 or more years old	69 (45.39%)	18.93 (4.33)	
Type of delivery #			
Normal	87 (57.23%)	19.35 (3.98)	0.862
Caesarean	65 (42.76%)	19.22 (4.38)	
Infant sex #			
Male	71 (46.71%)	19.32 (3.99)	0.852
Female	81 (53.28%)	19.18 (4.37)	
Prematurity #			
No	147 (96.71%)	19.89 (2.00)	0.573
Yes	5 (3.94%)	16.63 (4.38)	
Birth weight #			
2,500 g or more	146 (96.05%)	19.44 (4.03)	0.418
Less than 2,499 g	7 (3.94%)	20.71 (4.02)	
Breastfeeding (at least 1 month)			
Yes	137 (90.13%)	19.58 (4.06)	0.514
No	15 (9.86%)	18.93 (3.76)	
Breastfeeding in 4 th month			
Yes	94 (61.84%)	19.59 (3.90)	0.681
No	58 (38.15%)	19.41 (4.11)	
Smoking #			
Never	87 (57.23%)	19.25 (4.32)	0.525**
In the past, not during pregnancy	22 (14.47%)	20.15 (3.24)	
In pregnancy and now	43 (28.28%)	18.60 (4.04)	
Alcohol consumed in last year #			
No	99 (65.1%)	19.28 (\pm 4.23)	0.702*
Yes	53 (34.8%)	18.90 (\pm 3.50)	
History of affective disorder #			
No	136 (89.47%)	19.33 (\pm 4.22)	0.147
Yes	16 (10.52%)	17.53 (\pm 3.84)	
Stressful life events in pregnancy #			
2 or less	133 (87.50%)	19.40 (\pm 4.01)	0.254
3 or more	19 (12.50%)	18.17 (\pm 4.90)	
PPAD #			
No	129 (84.86%)	19.67 (\pm 4.09)	0.003
Yes	23 (15.13%)	16.86 (\pm 3.69)	
Type of PPAD episode #			
None	129 (84.86%)	19.67 (\pm 4.09)	0.001*
Unipolar depression	7 (4.60%)	18.42 (\pm 2.22)	
Mania	8 (5.26%)	17.22 (\pm 4.08)	
Mixed episode	8 (5.26%)	14.85 (\pm 3.89)	
Anxiety #			
No	132 (86.84%)	19.71 (\pm 3.93)	0.000
Yes	20 (13.15%)	15.88 (\pm 4.15)	
BDNF level ##	2.39 (1.28)	0.042	0.669**
NGF level ##	2.43 (1.27)	0.231	0.010**
IL-6 level ##	2.06 (1.37)	0.040	0.663**
Maternal cortisol level ##	1.12 (0.96)	0.118	0.220**
Infant's cortisol level ##	1.32 (1.73)	-0.152	0.086**

*ANOVA, Bonferroni

**Spearman Correlation

#N (%)

##Mean (\pm SD)

Table 2

Linear regression of infant neurobiological - motor development (AIMS Score), history of affective disorders, postpartum affective disorder (PPAD), maternal anxiety disorder, maternal NGF levels and infant cortisol levels

	Adjusted Linear Regression Coefficient (95% CI)	p-value
History of affective disorder	-1,07 (-3,64 to 1,48)	0.147
PPAD *	-1.35 (-2.70 to -0.08)	0.049
Maternal anxiety disorder *	-2.89 (-5.69 to -0.91)	0.043
Maternal NGF level *	0.59 (0.46 to 1.13)	0.034
Infant cortisol level *	-0.31 (-0.55 to -0.06)	0.013

*Variables adjusted for each one and for history of affective disorder

Figure 1

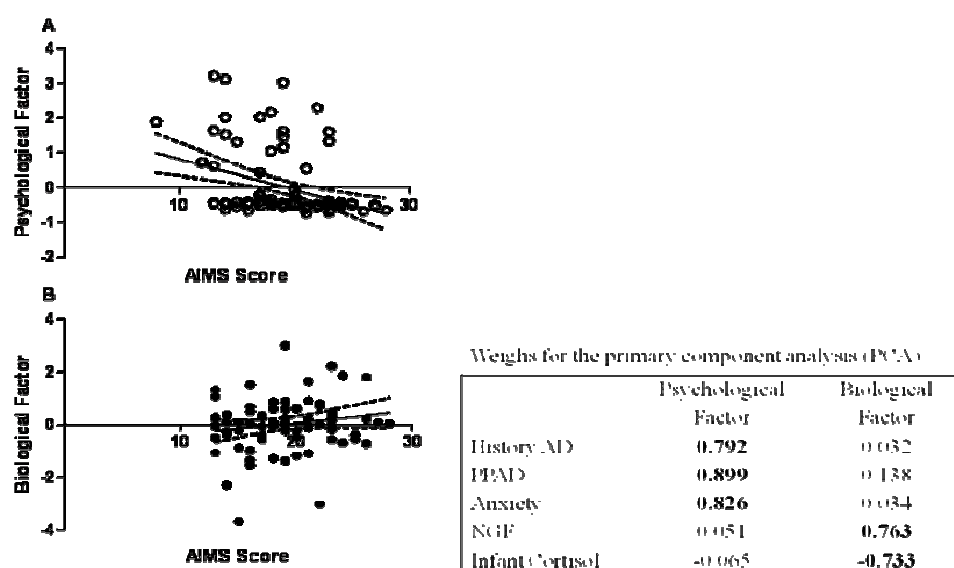


Table 3

Linear regression of extract factor from Primary Component Analysis (PCA)

	Linear regression coefficient (95% CI)	p-value
Factor 1 – Psychological Factor	-1.486 (-2.25 to -0.72)	0.000
Factor 2 – Biological Factor	1.031 (0.35 to 1.70)	0.003

Artigo 3: Chronicity and severity of maternal postpartum depression and infant sleep disorders: A population-based cohort study in southern Brazil

Revista: Infant Behavior and Development

Chronicity and severity of maternal postpartum depression and infant sleep disorders: A population-based cohort study in southern Brazil

Karen Amaral Tavares Pinheiro^a, Ricardo Tavares Pinheiro^a, Ricardo Azevedo Silva^a,
Fábio Monteiro Coelho^a, Luciana de Ávila Quevedo^a, Russélia Vanila Godoy^a,
Karen Jansen^a, Bernardo Lessa Horta^b, Jean Pierre Osés^a

a- Postgraduate Program in Health and Behavior, Catholic University of Pelotas,
Brazil

b- Postgraduate Program in Epidemiology, Federal University of Pelotas, Brazil

Corresponding Author:

Ricardo Tavares Pinheiro

ricardop@terra.com.br

Programa de Pós-Graduação em Saúde & Comportamento, Universidade Católica de
Pelotas, Pelotas, Brasil

Avenida Ferreira Viana 1635, sala 401

96085-000, Pelotas, RS, Brasil

Phone: +55 53 81110602

FAX: +55 53 32251460

Abstract

A cohort study was conducted with 397 women randomly selected from the Brazilian National System of Public Health, to describe the prevalence rates of infant sleep problems at 12-month of life, and its association with chronicity and severity of maternal depressive symptoms. Mothers were assessed, first, from the 9th to the 12th week postpartum and then at 12 months after delivery, with EPDS and self-rating questionnaire regarding babies' sleep behavior. After controlling for possible confounders, babies whose mothers had severe chronic depressive symptoms were at higher risk for sleep disorders at 12 months of birth.

Keywords: postnatal depression, chronicity, severity, sleep disorders, infant

1. Introduction

Infant sleep problems are significant disturbance in the first year of life, with prevalence rates ranging from 14 to 46% (Hiscock and Wake, 2001; Martin, Hiscock, Hardy, Davey e Wake, 2007). Early reports have pointed a tendency to sleep problems persist over time (Gregory and O'Connor, 2002). Furthermore, sleep difficulties could also shape affect, attention, cognitive and language development (Dahl, 1996; Dearing, McCartney, Marshal and Warner, 2001; Tronik and Reck, 2009), and have been found to forecast behavior problems (Gregory and O'Connor, 2002).

Maternal post-natal depression is a modifiable risk factor for the development of sleep problems in the child (Bayer, Hiscock, Hampton and Wake, 2007). Moreover, depressed mothers have been seen to spend less time positively interacting with their children and to show more inconsistent and ineffective child management strategies than non-depressed parents (Cicchetti and Toth, 1995; Field, 2010). Therefore, as the depressive symptoms worsen and persist, a greater impact over the child sleep is expected. We report here the prevalence rates for sleep problems at 12 months of life, with emphasis in the impact of chronicity and severity of maternal depressive symptoms over their child's sleep.

2. Methods

A cohort study was conducted with a representative sample of mothers enrolled in the Brazilian National System of Public Health from the city of Pelotas, southern Brazil. Between July and December 2007, we randomly selected 397 pregnant women engaged in the Antenatal Health Program (SIS – pré-natal), which represents 40% of all deliveries of the period.

Mothers were visited after 9-12 weeks postpartum and 12 months after delivery. The Edinburgh Postpartum Depression Scale (EPDS) in its validated Portuguese version (Santos et al., 2007) was applied to detect mother's depressive symptoms. Severity of maternal depression was based on EPDS scores as follow: mild depression (from 10 to 12) and severe depression (13 or more). Chronic cases were determined by the presence of depressive disorder in both assessments.

For the assessment of sleep problems in the babies as 4-item self-rating questionnaire was applied in both mothers and fathers, asking about the following dysfunctional sleep behavior observed in the last week: (1) sleep more than 12h per day or less than 12h per day, naps included; (2) nighttime awakenings; (3) absence of sleep routine and (4) sleep terror. We considered sleep problems when two or more of these behaviors were consistently present in both reports.

The following variables were considered as potential confounders: maternal age, socioeconomic status (according to the Economic Classification for Brazil of the Association of Population Survey Companies, in which the highest-income level is "A", middle class is "C" and the lowest is "E"), maternal years of schooling, living with partner, working outside the home, birthweight, gender, prematurity, troubles at birth, number of sickness period in the last month, number of medical consults in the first year of life, breastfeeding and paternal depression (assessed with EPDS). In order to control for maternal mood-related sleep symptoms, we used the question 7 of EPDS (EPDS7), which states: "I have been so unhappy that I have had difficulty sleeping".

Data entry used EpiInfo 6.4 software with dual keying-in and subsequent consistency check. Statistical analyses was performed with Stata 9 software and SPSS 10.0 for windows. Univariate analysis was used to assess sample's characteristics. Associations between sleep problems and the independent variables were verified with the Pearson chi-square test, with

assumed level of significance of $p < 0.05$. In order to identify and control potential confounders, *Poisson* regression was performed, according to the previously established hierarchical model, with the following disposition: sociodemographic variables (maternal age, socioeconomic status, maternal years of schooling, living with partner, working outside the home) at the first level; birth related variables (birthweight, gender, prematurity, troubles at birth) at the second; child health variables (number of sickness periods in the last month, number of medical consults in the first year of life, breastfeeding) at the third; and parental psychopathology (paternal depression and maternal depression) at the fourth levels. Only the variables showing $p \leq 0.2$ remained in the model.

The study was approved by the local committee for research ethics. The women could refuse to participate. Confidentiality of data and care with information management was assured. Parents showing depressive disorder were sent to psychiatric care.

3. Results

In the perinatal study, we identified 397 dyads (mother – liveborn children), all of whom were then followed from the 9th to the 12th week postpartum, 366 dyads were evaluated 12 months after delivery. Regarding some characteristics of the studied population, mean maternal age was 26.2 (+6.6) years, about half of the children belonged to middle class families (socioeconomic class “C”), and 76.5% of the mothers were living with a partner. As for the children, 6.1% were birthweight and 35.7% premature. The prevalence of maternal depression was 22.7% in postpartum, 24.6% at 12 months postpartum. We observed that 12.3% of the mother presented depression only in the postpartum period, 14.2% at 12 months postpartum, whereas 10.4% of the mother reported chronic depressive symptoms. Sleep problems arise in 35.8% of the babies at 12 months of life. No association was found between maternal mood-related sleep disturbance (EPDS7) and infant’s sleep problems ($p=0.38$).

After controlling for possible confounding variables, we observed that severity of maternal depression had a significant impact in children's outcome. As shown in Table 1, the risk of sleep problems for those children whose mothers presented new onset severe depression at 12 months [2.20; 95% confidence interval (CI): 1.19-4.35] was higher than observed among mild depressed mother's offspring (1.57; 95% CI: 0.48-5.13). When chronicity was taken into account, we observed an additional risk of 2.20 (95% CI: 0.62-7.86) for mild chronic depressed mother, and even higher (2.58; 95% CI: 1.15-5.63) for chronic severe cases. Moreover, a linear trend could be observed toward a higher risk of sleep problems as severity and chronicity of mother's depressive symptoms increases ($p=0.05$).

4. Discussion

To our knowledge, this is the first study to assess the impact the severity and chronicity of maternal depression over the child's sleep in a developing country.

We have detected that as severity and chronicity of maternal depressive symptoms increases, sleep problems in the child at 12 months of the life increases, even after controlling for possible confounders. This find is consistent with previous reports regarding behavioral and cognitive outcomes (Brennan *et al.*, 2000), suggesting that long-lasting and severe maternal depressive symptoms could play important role in the development of sleep disorders in the infants (Warren, Howe, Simmens e Dahl, 2006). Of interest, we found no association between infant sleep problems and maternal mood-related sleep disturbance, which points toward the possible relevance of other features than maternal sleep in mediating the association of maternal depression and infant sleep problems. This find is in contrast to a recent pilot study (Meltzer e Mindell, 2007), although dissimilarities of instruments used to evaluated sleep problems could account for the diverse results.

The results of the present study should be interpreted in the light of its limitations. First, we have used a questionnaire instead of an objective method to assess child's sleep problems. An attempt to control this shortcoming was made by using both mothers and fathers report of child sleep. Second, we did not apply clinical interviews to subjects, and this represents a methodological weakness. However, cutoff points and diagnostic interviews can both be valuable tools to obtain a realistic measure of mood disorders in parents (Gibson et al., 2009; Pinheiro et al., 2006; Santos et al., 2007). Finally, the mothers did not have an objective measure about possible sleep disorders. However a recent study has showed no association between maternal depression and mother's sleep pattern in postnatal period (Dorheim, Boondevik, Eberhard-Gran e Bjorvatn, 2009).

Overall, these findings strengthen the argument that maternal depressive disorder could have deleterious effect in the child's sleep (Warren, Howe, Simmens e Dahl, 2006), even more in chronic and severe cases. Therefore, given the possibly mutual influences regarding maternal depressive symptoms and child sleep (Dennis e Ross, 2005; Lam, Hiscock e Wake, 2003; Warren, Howe, Simmens e Dahl, 2006), attention must be given to this interaction.

Acknowledgement

This study was supported by the Brazilian National Council of Research (CNPq).

References

Bayer, J. K., Hiscock, H., Hampton, A., e Wake, M. (2007). Sleep problems in young infants and maternal mental and physical health. *Journal of Pediatrics and Child Health*, 43(1-2), 66-73.

Brennan, P. A., Hammen, C., Andersen, M. J., Bor, W., Najman, J. M., e Williams, G. M. (2000). Chronicity, severity, and timing of maternal depressive symptoms: Relationships with child outcomes age 5. *Developmental Psychology*, 36(6), 759-766.

Cicchetti, D., e Toth, S. L. (1995). A development psychopathology perspective on child abuse and neglect. *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry*, 34(5), 541-565.

Dahl, R. E. (1996). The impact of inadequate sleep on children daytime cognitive function. *Seminars in Pediatric Neurology*, 3(1), 44-50.

Dearing, E., McCartney, K., Marshall, N. L., e Warner, R. M. (2001). Parental reports of children's sleep and Wakefulness: Longitudinal associations with cognitive and language outcomes. *Infant Behavior and Development* , 24, 151-170.

Dennis, C. L. e Ross, L. (2005). Relationship among infant sleep patterns, maternal fatigue, and development of depressive symptomatology. *Birth*, 32(3), 187-193.

Dorheim, S. K., Bondevik, G. T., Eberhard-Gran, M., e Bjorvatn, B. (2009). Subjective and objective sleep among depressed and non-depressed postnatal women. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 11(2), 128-136.

Field, T. (2010). Postpartum depression effects on early interactions, parenting, and safety practices: A review. *Infant Behavior and Development*, 33(1), 1-6.

Gibson, J., McKenzie-McHarg, K., Shakespeare, J., Price, J., e Gray, R. (2009). A systematic review of studies validating the Edinburgh Postnatal Depression Scale in antepartum and postpartum women. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 119(5), 350-364.

Gregory, A. M., e O'Connor, T. G. (2002). Sleep disorders in childhood: A longitudinal study of development change and association with behavioral problems. *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry*, 41, 964-971.

Hiscock, H., e Wake, M. (2001). Infant sleep problems and postnatal depression: A community-based study. *Pediatrics*, 107(6), 1317-1322.

Lam, P., Hiscock, H., e Wake, M. (2003). Outcomes of sleep problems: A longitudinal study sleep, behavior and maternal well-being. *Pediatrics*, 111(3), 203-207.

Martin, J., Hiscock, H., Hardy, P., Davey, B., e Wake, M. (2007). Adverse associations of infant and child sleep problems and parent health: An Australian population study. *Pediatrics*, 119(5), 947-955.

Meltzer, L. J., e Mindell, J. A. (2007). Relationship between child sleep disturbance and maternal sleep, mood, and parenting stress: A pilot study. *Journal of Family Psychology*, 21(1), 67-73.

Pinheiro, R.T., Magalhães, P.V.S., Horta, B.L., Pinheiro, K.A.T., Silva, R.A., e Pinto, R.H. (2006). Is paternal postpartum depression associated with maternal postpartum depression? Population-based study in Brazil. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 113, 230-232.

Santos, I.S., Matijasevich, A., Tavares, B.F., Barros, A.J.D., Botelho, I.P., Lapolli, C. et al. (2007). Validation of the Edinburgh Postnatal Depression Scale (EPDS) in a sample of mothers from the 2004 Pelotas Birth Cohort Study. *Cadernos de Saúde Pública*, 23(11), 2577-2588.

Tronik, E., e Reck, C. (2009). Infant of depression mothers. *Harvard Review of Psychiatry*, 17(2), 147-156.

Warren, S.L., Howe, G., Simmens, S.J., e Dahl, R.E. (2006). Maternal depressive symptoms and child sleep: Models of mutual influence over time. *Developmental Psychology*, 18, 1-16.

Table 1

Prevalence rates for maternal depression and infant sleep problems, with adjusted relative risks and 95% confidence intervals (CI) for infant sleep problems as related to maternal depressive disorder

Maternal depression	Sample distribution n=366 (%)	Sleep problems prevalence n=131 (%)	Relative risk (95%CI)	<i>P</i>
No depression at any point	231 (67.1)	72 (31.2)	Reference	0.05*
Postpartum depression only	45 (12.3)	14 (31.1)	0.99 (0.50 – 1.98)	0.99
New onset mild depression at 12 month	12 (3.3)	5 (41.7)	1.57 (0.48 – 5.13)	0.44
Mild chronic depression	10 (2.7)	5 (50.0)	2.20 (0.62 – 7.86)	0.22
New onset severe depression at 12 months	40 (10.9)	20 (50.0)	2.20 (1.19 – 4.35)	0.02
Chronic severe depression	28 (7.7)	15(53.6)	2.58 (1.15 – 5.63)	0.02

**p*-Value for linearity test

PARTE III – CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho apresentou em sua primeira parte o projeto de um estudo longitudinal de base populacional em mulheres no período gravídico-puerperal e seus bebês com corte transversal.

Cumpridas as etapas de elaboração e execução do projeto, procedeu-se a análise dos dados e confecção dos três artigos científicos que compuseram esta tese. A presente sessão destina-se à conclusão dos artigos cujo objetivo conjunto visa uma compreensão dos transtornos do humor no período gravídico-puerperal abrangendo as repercussões neurobiológicas e psicológicas tanto na vida das mulheres como de seus bebês.

Com a finalidade de facilitar a compreensão dos achados, os objetivos serão apresentados junto dos principais resultados de cada artigo, levando em consideração as hipóteses delineadas no projeto.

O primeiro artigo procurou compreender a relação entre a experiência de eventos estressores durante a gestação, transtornos do humor e risco de suicídio destas mulheres no período pós-parto e os seus respectivos níveis séricos de BDNF.

Os resultados obtidos neste artigo nos proporcionam resposta para as seguintes hipóteses anteriormente formuladas:

HIPÓTESE I – A prevalência de transtornos do humor em mulheres no período gravídico-puerperal está de acordo com a encontrada na literatura. Esta hipótese foi confirmada, uma vez que os dados da literatura abordam prevalência de transtornos do humor entre 13 e 20% e em nosso estudo constatou-se uma prevalência de 15.3%.

HIPÓTESE II – Existe associação significativa entre transtornos do humor no período pós-parto e risco de suicídio. Esta hipótese foi confirmada pela alta prevalência destes transtornos entre as mulheres que apresentaram risco de suicídio. Risco de suicídio foi

observado em 9.5% das mulheres, destas 77.89% apresentavam transtorno do humor associado ao pós-parto.

HIPÓTESE III – Mulheres no pós-parto com história de tratamento anterior para doença psiquiátrica prévia apresentam menores níveis de BDNF. Analisou-se a associação entre tratamento psiquiátrico anterior e BDNF, não havendo confirmação da hipótese. Apesar de se manifestar uma tendência inicial, após o ajuste das variáveis, não ofereceu associação.

HIPÓTESE IV – Mulheres no período pós-parto com transtornos do humor e risco de suicídio apresentam níveis de BDNF, NGF, IL-6 e cortisol alterados em comparação àquelas sem transtorno do humor. Como já explicitado, neste primeiro artigo avaliamos a associação dos transtornos do humor e risco de suicídio com a alteração dos níveis de BDNF. O fato de uma mulher apresentar transtorno do humor no pós-parto não esteve associado ao nível sérico de BDNF, entretanto, mulheres que associado ao transtorno do humor apresentavam risco de suicídio tinham seus níveis séricos de BDNF significativamente mais baixos do que aquelas que não apresentaram risco de suicídio, o que confirmou em parte nossa hipótese.

HIPÓTESE V – A exposição a eventos estressores de vida no período gestacional está associada a transtorno de humor e risco de suicídio no pós-parto. Esta hipótese teve corroboração parcial. Ter sido exposta a elevado número de eventos estressores esteve associado ao transtorno afetivo neste período. Porém, a exposição a eventos estressores de vida na gestação não se associou ao risco de suicídio do pós-parto.

HIPÓTESE VI – A exposição a eventos estressores de vida no período gestacional está associado a níveis mais baixos de BDNF em mulheres no pós-parto. Esta hipótese ganhou força após a análise de dados deste artigo. Mesmo após o ajuste para tratamentos psiquiátricos prévios os níveis séricos mais baixos de BDNF foram encontrados naquelas mulheres que haviam sido expostas a três ou mais eventos estressores durante a gestação quando comparadas àquelas mães menos expostas aos eventos. Fortalece a ideia que baixos

níveis de BDNF podem estar associados à exposição em maior frequência de eventos estressores.

O segundo artigo é direcionado para a busca de elucidação do impacto do adoecimento mental da mãe durante o pós-parto no desenvolvimento motor de seus bebês. Nesta procura buscamos detectar a relação de transtornos de humor no período pós-parto, níveis séricos maternos de NGF, BDNF e IL-6 e salivares de cortisol da mãe e do bebê com o desenvolvimento neurobiológico - motor destes bebês.

Os resultados obtidos neste artigo nos permitem responder ou inferir respostas para as seguintes hipóteses:

HIPÓTESE I – A prevalência de transtornos do humor em mulheres no período gravídico-puerperal está de acordo com a encontrada na literatura. Esta hipótese foi confirmada, uma vez que os dados da literatura abordam prevalência de transtornos do humor entre 12 a 20% e em nosso estudo constatou-se uma prevalência de 15.1%.

HIPÓTESE IV - Mulheres no período pós-parto com transtornos do humor e risco de suicídio apresentam níveis de BDNF, NGF, IL-6 e cortisol alterados em comparação àquelas sem transtorno do humor. No segundo artigo, embora não tenha sido este o desfecho, avaliamos a associação entre os transtornos do humor e alterações dos níveis maternos de BDNF, NGF, IL-6 e cortisol, tanto maternos quanto dos bebês. Esta hipótese não ganhou impulso, pois BDNF, NGF, IL-6 e cortisol maternos nem o cortisol do bebê apresentaram associação com a presença de transtornos do humor.

HIPÓTESE VII – Transtornos do humor maternos prejudicam o desenvolvimento neurobiológico dos bebês desencadeando menor desempenho motor, indicando provavelmente menor maturação motora. Esta hipótese foi fortalecida uma vez que bebês de mães com transtorno do humor no pós-parto obtiveram escores na AIMS significativamente mais baixos na avaliação do desenvolvimento neurobiológico.

HIPÓTESE VIII - Alteração nos níveis maternos de BDNF, NGF, IL-6 e cortisol está associada à presença de desenvolvimento motor inadequado. A hipótese foi corroborada: os níveis de NGF materno e cortisol do bebê estiveram associados ao desempenho motor. O aumento dos níveis do NGF materno e a diminuição do cortisol do bebê apresentaram-se vinculados ao melhor desempenho motor, na direção da nossa hipótese. Na tentativa de expansão compreensiva, nossas análises constataram que NGF correlacionou-se com o cortisol do bebê negativamente, relação que se discute neste artigo. Ainda que não diretamente vinculado ao nosso desfecho (desenvolvimento motor) constatamos que níveis mais elevados de NGF estiveram associados ao aumento de IL-6, entretanto a IL-6 não apresentou associação com o desenvolvimento e ainda não temos clareza da representação de tal achado.

O terceiro artigo objetiva relatar a prevalência de problemas do sono em bebês aos doze meses de vida e verificar a associação destes com a presença de sintomas depressivos maternos nas perspectivas da gravidade e cronicidade destes sintomas.

As hipóteses deste trabalho que obtém significativo grau de resposta neste artigo seguem:

HIPÓTESE I – A prevalência de transtornos do humor em mulheres no período gravídico-puerperal está de acordo com a encontrada na literatura. No terceiro artigo foi realizada avaliação de transtorno depressivo no pós-parto. Levando-se em conta a sintomatologia depressiva, esta hipótese foi confirmada.

HIPÓTESE IX - O problema de sono em bebês aos doze meses em nossa amostra brasileira tem prevalência semelhante à encontrada na literatura mundial. A hipótese foi confirmada. Em nossa amostra verificamos prevalência de 35.8% de problemas de sono em bebês de um ano, que se mostrou em consonância com aquela encontrada na literatura, que variou de 14 a 46%.

HIPÓTESE X - Os transtornos do humor maternos estão associados a desordens de sono em bebês no primeiro ano de vida. Esta hipótese foi fortalecida, pois se constatou que mulheres com transtornos depressivos crônicos e graves apresentam maior força de associação àqueles bebês que tiveram problemas de sono aos doze meses de vida.

No decorrer do presente trabalho procuramos expor diversas questões envolvidas no complexo objeto de estudo que é o adoecimento mental, especificamente os transtornos do humor, no período gravídico-puerperal e suas repercussões neurobiológicas e psicológicas na vida de mulheres e seus bebês, através do enfoque dado nos artigos apresentados nesta tese.

É de suma importância ter-se presente que ao abordar as questões em diferentes artigos se fez necessária a fragmentação do todo para que o adoecimento das mães no período gravídico-puerperal e as consequências em seus bebês em diversos cortes pudessem ser analisados. Parece ser esta uma ironia da ciência, divide para melhor entender o todo. Esquecendo-se do princípio Aristotélico que o todo é mais que a soma das partes. E, assim o é, porque não é possível que analisemos detalhadamente dados tão complexos sem cindi-los.

Foi desta forma que procedemos neste estudo. Primeiramente, tivemos que escolher uma parcela da população que seria estudada, e desta, outras parcelas para a análise dos dados de cada artigo em função da exequibilidade do estudo. Daí nossa primeira limitação: o tamanho da amostra. Idealmente gostaríamos de trabalhar com número amostral maior, mas na realidade, tanto por imposição do tempo de realização do estudo, como limitação de recursos financeiros, uma vez que a avaliação de material biológico demanda gastos consideráveis, isso não foi possível. Uma virtude, entretanto, é o fato de nossa amostra ser de base populacional, praticamente virgem de tratamentos anteriores e não uma amostra clínica, com seus problemas de serem sujeitos habitualmente em processos crônicos, que já passaram por muitas tentativas de tratamento, muitas vezes equivocadas, principalmente quando se fala de transtornos do humor, nos quais a prevalência de tratamento inadequado é alta.

O fato de as mulheres portadoras de transtornos do humor, que compuseram nossa amostra, serem em sua grande maioria portadoras de enfermidade de curso recente e sem tratamentos prévios, acabou por, acreditamos, não ratificar nossa hipótese inicial de que as neurotrofinas e citocinas estariam alteradas nessas mulheres. A não existência de quadros crônicos que determinassem alterações ao nível da síntese de receptores destas substâncias, assim como da síntese delas próprias fez com que nos defrontássemos com este fato. Estudos de neuroimagem têm sido realizados com pacientes com transtorno bipolar e têm mostrado que esses pacientes apresentam diminuição do volume do córtex préfrontal subgenual e aumento da amígdala e do estriado, assim como alterações tardias de neurotrofinas e citocinas, em decorrência da instalação de um possível processo de neuroinflamação ligado à gênese deste transtorno.

Outra questão é quais aspectos, ao cindir o todo, abordamos neste trabalho. Não foi possível, nem seria, mensurar todos os marcadores provavelmente envolvidos nesse complexo tema, nem todas as substâncias que potencialmente auxiliariam no entendimento da questão. Aqui se transitou, na tarefa pontual de identificar marcadores possivelmente envolvidos neste processo, por parte das vias neurohormonais, deixando para um segundo momento, pós maturação dos resultados aqui obtidos, o estudo com um espectro maior de marcadores periféricos (uma gama maior de neurotrofinas e citocinas), bem como a da transcrição de sinal, da regulação da expressão gênica, dos processos de estresse oxidativo, e outros componentes envolvidos na regulação da secreção de neurotrofinas, citocinas, hormônios, entre outros.

Este estudo contribuiu, entretanto, para que se atente às seguintes questões: os eventos estressores de vida no período gestacional estão associados a baixos níveis séricos de BDNF no período pós-parto, assim como em mulheres com risco de suicídio, evidenciando o potencial papel do BDNF na neurobiologia do risco de suicídio em mulheres com transtorno

do humor no período pós-parto. Além disso, mostrou que o desenvolvimento neurobiológico – motor de bebês aos quatro meses de idade está relacionado a dois importantes fatores: um psicológico, que abrange história prévia de transtorno do humor, transtorno do humor no período pós-parto e transtorno de ansiedade; assim como um fator biológico, que inclui níveis séricos de NGF materno e de cortisol salivar do bebê. Finalmente este trabalho evidenciou que quanto mais grave e crônico o transtorno depressivo da mãe, maiores as chances do bebê aos doze meses de vida apresentar problemas no sono, e essas alterações estão associadas em diversos outros estudos com déficit no desenvolvimento e doenças futuras.

Diante do acima exposto, espera-se ter contribuído de alguma forma para o início desta longa jornada na busca do conhecimento dos processos envolvidos nos transtornos do humor no período gravídico-puerperal e suas repercussões neurobiológicas e psicológicas na vida de mulheres e seus bebês, de forma que na prática clínica os resultados aqui obtidos possam servir de questionamento, quando se tem como finalidade a prevenção do estabelecimento de processos crônicos e graves nas mães, à medida que se possa realizar diagnósticos mais precoces e, assim, tentar impedir que os seus bebês venham a sofrer de problemas em várias áreas do seu desenvolvimento.

O progresso científico não reside necessariamente na constituição de totalidades cada vez mais amplas; pode estar, pelo contrario, nas liberdades e nas independências de pequenas unidades. A riqueza do universo não está em sua totalidade dispersiva, mas nas pequenas unidades reflexivas desviadas e periféricas que nele se constituíram.

Edgar Morin