

ANDREA AMARO QUESADA

**ESTRESSE E PREMATURIDADE : UM RISCO PARA A
MEMÓRIA E PARA O DESENVOLVIMENTO EMOCIONAL NA
INFÂNCIA**

BRASÍLIA – DF

2013

Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília
Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas

ANDREA AMARO QUESADA

ESTRESSE E PREMATURIDADE : UM RISCO PARA A
MEMÓRIA E PARA O DESENVOLVIMENTO EMOCIONAL NA
INFÂNCIA

BRASÍLIA – DF

2013

Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília
Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas

ANDREA AMARO QUESADA

**ESTRESSE E PREMATURIDADE : UM RISCO PARA A
MEMÓRIA E PARA O DESENVOLVIMENTO EMOCIONAL NA
INFÂNCIA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília, como requisito parcial à obtenção do grau de Doutor em Ciências Médicas.

Orientador : Prof. Dr. Riccardo Pratesi

Coorientadora: Prof^a Dr^a Rosana Maria Tristão

BRASÍLIA – DF

2013

**ESTRESSE E PREMATURIDADE : UM RISCO PARA A
MEMÓRIA E PARA O DESENVOLVIMENTO EMOCIONAL NA
INFÂNCIA**

Tese defendida e aprovada pela Comissão Examinadora

Prof. Dr. Riccardo Pratesi (FM, UnB)

(Orientador)

Prof. Dr. Jacob Arie Laros (IP, UnB)

(Membro titular)

Prof. Dr. Pedro Luiz Tauil (Fundação Oswaldo Cruz)

(Membro titular)

Prof^a Dr^a Adriana Lofrano Alves Porto (FS, UnB)

(Membro titular)

Prof^a Dr^a Yanna Karla de Medeiros Nóbrega (FS, UnB)

(Membro Titular)

BRASÍLIA-DF, 26 DE MARÇO DE 2013.

À memória de meu irmão Alisson Quesada, por sempre ter acreditado em mim, por seus sábios conselhos, por todo o carinho incondicional e por ter acompanhado cada passo desse trabalho.

Aos meus pais e irmãos por todo amor e carinho, por me ensinarem a nunca desistir de meus sonhos.

Às crianças prematuras, verdadeiras heroínas desde o nascimento.

Agradecimentos

Meus sinceros agradecimentos :

Ao meus orientadores Prof. Dr. Riccardo Pratesi, Prof. Dr. Oliver T. Wolf (Ruhr-Universität Bochum) e a minha coorientadora Prof^a Dr^a Rosana Maria Tristão, pelos ensinamentos, dedicação e apoio durante a realização deste trabalho. Com maestria e brilhantismo, vocês contribuíram significativamente para o meu aprendizado e desenvolvimento profissional.

À neuropediatra Rosângela C. Marinho e à fisioterapeuta Mônica L. Lemos, pela assistência no recrutamento dos participantes.

Aos estudantes de Medicina Fernanda B. Vianna, Lucas B.D. Barbosa, Igor C. Carneiro e Caroline Minchillo, por fazerem parte do comitê do *Trier Social Stress Test for Children*.

À Dra. Schoofs, ao Dr. Het e à doutoranda Uta Wiemers por me apresentarem o *Trier Social Stress Test* e pela excelente atmosfera de trabalho.

A German Research Foundation (DFG) e Research School da Ruhr-Universität Bochum pelo suporte financeiro.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de doutorado.

A toda a minha família pelo incentivo e carinho.

Aos meus avós Maria Luiza e Sérgio Antônio Amaro pelo incentivo.

A Verônica, Werner, Ricardo, Bárbara e Gustavo pelo apoio e carinho.

A Márcia por toda ajuda, principalmente durante esses últimos quatro anos.

A todos os participantes e seus responsáveis pelo interesse e engajamento no presente estudo.

“ It is easier to build strong children than repair broken man.”

Frederick Douglass

Resumo

Introdução: Cerca de 15 milhões de bebês prematuros nascem por ano no mundo. O nascimento prematuro envolve uma série de fatores de risco ao desenvolvimento como a exposição precoce ao estresse. Apesar disso, pouco se sabe sobre os possíveis prejuízos ocasionados pelo cenário prematuridade na infância.

Objetivo: Investigar os efeitos da prematuridade na infância sobre o funcionamento do eixo Hipotálamo-Hipófise-Adrenal (HHA) e Sistema Nervoso Simpático (SNS), memória e, desenvolvimento comportamental e emocional.

Delineamento de pesquisa: Para alcançar tal objetivo, realizou-se um estudo quase experimental, no qual participaram 30 crianças brasileiras pré-termo (grupo experimental) e 31 crianças brasileiras a termo.

Métodos: Cortisol e alfa-amilase (sAA) dos participantes foram avaliados durante dois dias consecutivos em quatro momentos diferentes: ao acordar, 30 min pós-acordar, às 16:00h e às 21:00h. Além disso, as crianças foram submetidas a bateria *Wide Range Assessment of Memory and Learning* (WRAML2) de avaliação de memória. Problemas de comportamento e sintomas emocionais foram rastreados por meio do Questionário de Dificuldades e Capacidades (do inglês, *Strengths and Difficulties Questionnaire* (SDQ)). Após uma semana, as crianças foram expostas a um conhecido estressor, o *Trier Social Stress Test for Children* (TSST-C). Cortisol e sAA foram mensurados novamente em quatro momentos diferentes: antes do TSST-C, 1min, 10min, e 25 min após o estressor.

Resultados: Crianças pré-termo apresentaram déficits de memória, elevado índice de sintomas emocionais e hiper-funcionamento do eixo Hipotálamo-Hipófise-Adrenal (HHA) em resposta ao TSST-C. A indução de cortisol pelo TSST-C foi mais significativa em meninas pré-termo. Entretanto, crianças pré-termo e a termo não diferiram nas concentrações de sAA.

Conclusão: O presente estudo demonstra as consequências do cenário prematuridade na infância. Crianças pré-termo são um fenótipo mais vulnerável, suscetíveis a alterações do funcionamento do eixo HHA, déficits de memória e problemas emocionais.

Palavras-chave: prematuridade, cortisol, alfa-amilase, memória, comportamento, sintomas emocionais e infância.

Abstract

Context: Every year, around 15 million babies are born prematurely worldwide. Being born prematurely involves the exposure to several risk factors to development, such as early-life stress. Nonetheless, little is known about the effects of preterm birth later on in childhood.

Objective: Our objective was to investigate the consequences of preterm birth on hypothalamus-pituitary-adrenal axis functioning, sympathetic nervous system functioning, memory performance and, behavioral and emotional profile in childhood.

Design and Setting: We conducted a quasi-experimental study, on which participated 30 Brazilian preterm children (experimental group) and 31 sex and age-matched full-term children (control group).

Methods: The basal cortisol and sAA of participants were measured on two consecutive days upon awakening, 30 minutes after awakening, at 1600h, and at 2100h. Further, we assessed memory functions by administration of the Wide Range Assessment of Memory and Learning (WRAML2) instrument. Behavior and emotion were evaluated by using the Strengths and Difficulties Questionnaire (SDQ). One week later, these children were exposed to a standardized laboratory stressor named *Trier Social Stress Test for Children* (TSST-C). Cortisol and alpha-amylase (sAA) were measured at four different time points: baseline, 1 min, 10 min and 25 min after the stressor.

Results: Preterm children had more memory impairments, emotional problems and an exaggerated cortisol response to TSST-C compared to full-term children. The cortisol increase in response to TSST-C was more pronounced in preterm girls. However, no differences were observed in the sAA response to TSST-C.

Conclusions: Our findings indicate the long-term effects of preterm birth and related factors on the HHA axis, internalizing behavior and memory, thereby creating a more vulnerable phenotype.

Keywords: preterm birth, cortisol, alpha-amylase, memory, behavior/emotion, childhood.

Lista de Figuras

Figura 1. Resumo esquemático do funcionamento do eixo HHA	3
Figura 2. Resumo dos procedimentos	14
Figura 3. Aplicação da bateria de testes <i>Wide Range Assesment of Memory and Learning</i> (WRAML2).....	18
Figura 4. Perfil de cortisol salivar de crianças pré-termo e a termo, de acordo com o gênero	25
Figure 5. Perfil comportamental/emocional de crianças pré-termo e a termo.....	26
Figura 6. Perfil mnemônico de crianças pré-termo e a termo.....	27
Figura 7. Desempenho nos subetstes WRAML2 que avaliam memória de trabalho e recuperação das informações armazenadas.	28
Figura 8. Variação de cortisol em resposta ao <i>Trier Social Stress Test for Children</i> em crianças pré-termo e a termo (A) e crianças pré-termo e a termo separadas por gênero (B)...	31

Lista de Tabelas

Tabela 1. Comparação dos dados sociodemográficos entre crianças pré-termo (N = 30) e a termo (N = 31).	23
Tabela 2. Comparação dos dados pré- e pós-natais entre crianças pré-termo (N = 30) e a termo (N = 31).	24
Tabela 3. Desempenho das crianças pré-termo e a termo nas escalas gerais e nos subtestes do <i>Wide Range Assessment of Memory and Learning</i>	29

Lista de Abreviaturas e Siglas

ACTH	Hormônio Adreno-Corticotrófico.
AIG	Adequado para Idade Gestacional
ANOVA	Análise de Variância
ANCOVA	Análise de Co-variância
AUC	Area sob a Curva
CRH	Hormônio Liberador de Corticotrofina
DP	Desvio Padrão
EP	Erro Padrão da média
GIG	Grande para a Idade Gestacional
11 β -HSD2	11 β -hidroxiesteróide desidrogenase tipo 2
HHA	Hipotálamo- Hipófise-Adrenal
IMC	Índice de Massa Corporal
MANCOVA	Análise Multivariada de Co-variância
MANOVA	Análise Multivariada de Variância
PIG	Pequeno para a Idade Gestacional
sAA	Alfa-amilase
SAM	<i>Self-Assessment Manikin</i>
SDQ	<i>Strengths and Difficulties Questionnaire</i>
SNA	Sistema Nervoso Autônomo
SNS	Sistema Nervoso Simpático
TSST-C	<i>Trier Social Stress Test for Children</i>
UTI	Unidade de Terapia Intensiva
WRAML2	<i>Wide Range Assessment of Memory and Learning, Second Edition</i>

Sumário

I.	Introdução	1
1.	O que é estresse?	1
2.	Fisiologia do estresse	2
3.	O lado positivo e negativo do estresse e seus hormônios	3
4.	Estresse psicossocial afeta recuperação das informações armazenadas em crianças a termo 5	
5.	Estresse pré-natal aumenta o risco de prematuridade	6
6.	Nascimento pré-termo: uma exposição precoce a eventos estressantes	7
7.	Funcionamento do eixo Hipotálamo-Hipófise-Adrenal (HHA) e do Sistema Nervoso Simpático (SNS) em indivíduos pré-termo na infância: há ainda muito a pesquisar	8
8.	Como indivíduos pré-termo respondem a um evento estressante na infância	8
9.	Principais déficits cognitivos e distúrbios comportamentais observados em indivíduos pré-termo.....	9
II.	Justificativa.....	10
III.	Perguntas de pesquisa.....	10
IV.	Objetivos	11
1.	Objetivo geral.....	11
2.	Objetivos específicos	11
V.	Material e Métodos	12
1.	Participantes	12
2.	Critérios de inclusão e exclusão	12
3.	Procedimentos e materiais.....	13
3.1	<i>Levantamento dos dados sociodemográficos e clínicos.....</i>	<i>13</i>
3.2	<i>Avaliação do perfil neuroendócrino e autonômico : cortisol e alfa-amilase... 15</i>	
3.3	<i>Determinação do perfil comportamental e emocional.....</i>	<i>16</i>
3.4	<i>Avaliação do perfil mnemônico.....</i>	<i>17</i>

3.5	<i>Mensuração de cortisol e sAA em resposta ao Trier Social Stress Test for Children</i>	18
3.6	<i>Análises estatísticas</i>	20
VI.	Resultados	22
1.	Análise descritiva da amostra.....	22
2.	Prematuridade e perfil neuroendócrino e autonômico na infância.....	24
3.	Prematuridade e perfil comportamental/emocional (SDQ) na infância.....	26
4.	Prematuridade e perfil de memória na infância	27
5.	Prematuridade e resposta fisiológica/emocional ao <i>Trier Social Stress Test for Children (TSST-C)</i>	29
6.	Relação entre estresse precoce , déficits de memória, e problemas emocionais.....	31
VII.	Discussão	32
1.	Alterações no funcionamento do eixo HHA em crianças pré-termo	32
	Comparadas ao grupo controle, as crianças pré-termo, especificamente as meninas, apresentaram altos níveis de cortisol ao acordar e em resposta ao TSST-C.....	32
2.	Crianças pré-termo são mais suscetíveis a problemas emocionais	34
3.	Crianças pré-termo são mais suscetíveis a déficits de memória. Memória visual e recuperação de informações verbais são as principais funções afetadas	34
4.	Hiper-reatividade do eixo HHA, problemas emocionais e déficits de memória em crianças pré-termo: consequências de longa duração do estresse precoce vivenciado por um cérebro imaturo?	36
5.	Diferenças entre gêneros no aumento de cortisol em resposta ao TSST-C em crianças pré-termo: possíveis explicações.	38
6.	Limitações do estudo.....	38
VIII.	Conclusão	40
IX.	Perspectivas	41
	Referências Bibliográficas	43
	ANEXOS	58
	Anexo 1: Questionário de Dificuldades e Capacidades (do inglês, Strengths and Difficulties Questionnaire).....	59

Anexo 2: SELF-ASSESSMENT MANIKIN - SAM.....	61
APÊNDICES	62
Apêndice 1: Lista dos artigos publicados, em submissão e comunicações em Congressos	63
1) Artigo publicado.....	63
2) Artigo em fase de submissão.....	63
3) Comunicações em Congressos	63
Apêndice 2: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).....	65

I. Introdução

Segundo estimativas da Organização Mundial de Saúde (OMS), aproximadamente 15 milhões de bebês pré-termos (antes de 37 semanas de gestação) nascem por ano no mundo. Mais de 60% desses nascimentos ocorrem em países asiáticos e africanos. No Brasil, 10º colocado no ranking, estima-se cerca de 279000 partos prematuros por ano. Contudo, a prematuridade não está restrita a países pobres. Os Estados Unidos, por exemplo com cerca de 500.000 nascimentos prematuros por ano, encontra-se em 6º lugar (Blencowe et al., 2012).

Embora alguns estudos apontem a idade materna, gestações gemelares, infecções, hipertensão, pré-eclampsia, diabetes gestacional, fumo, drogas, má-nutrição, deformações uterina e cervical como principais fatores de risco à prematuridade, cerca de 40% dos nascimentos prematuros têm causa desconhecida (Goldenberg, Culhane, Iams, & Romero, 2008; McElrath et al., 2008). Nos últimos anos, pesquisas têm mostrado que o estresse materno aumenta a probabilidade do nascimento pré-termo (Class, Lichtenstein, Langström, & D'Onofrio, 2011; Torche & Kleinhaus, 2012), sendo, portanto, um importante fator a ser considerado. Além disso, indivíduos prematuros experienciam inúmeros estressores (físico, psicológico e fisiológico) após o nascimento. Essa precoce exposição ao estresse pode acarretar alterações estruturais e funcionais no cérebro (Smith et al., 2011), levando a prejuízos cognitivos, comportamentais e emocionais ao longo da vida.

1. O que é estresse?

O estresse ocorre quando um dado evento, estímulo ou pensamento é interpretado por um indivíduo como uma ameaça a sua homeostase (Goldestein & McEwen, 2002). De acordo com esse conceito, se um indivíduo perceber que é capaz e têm os recursos necessários para lidar com um estressor, o estresse será minimizado ou nem sequer estará presente. Por outro lado, se um indivíduo perceber que seus recursos não são suficientes para lidar com tal

ameaça, ele estará sobre estresse. Ao vivenciar inúmeros procedimentos dolorosos na Unidade de Terapia Intensiva Neonatal (UTI Neonatal), um simples trocar de fraldas, por exemplo, pode ser interpretado por bebês prematuros como um evento estressante. (Grunau, Holsti, & Peters, 2006). Portanto, o estresse é relativo e dependente de fatores genéticos, cognitivos e experiências passadas (Lupien et al., 2006; Koolhaas et al., 2011).

O estresse poder ser positivo, bem como negativo. Aquele que traz benefícios, motiva o indivíduo para lidar com a situação, culminando no êxito é conhecido como eutresse. Por outro lado, a estimulação constante do sistema de resposta ao estresse e prolongada exposição a altos níveis de cortisol pode representar um risco à saúde dos indivíduos (de Kloet, Joëls, & Holsboer, 2005; Lupien, McEwen, Gunnar, & Heim, 2009). Esse estresse negativo, cujas consequências são prejudiciais ao nosso organismo é conhecido como distresse (Selye, 1975).

O estresse pode ser classificado, também quanto à duração, dividindo-se em: agudo ou crônico. Enquanto o estresse agudo é oriundo da exposição por um curto período de tempo a eventos estressores, o estresse crônico é oriundo de uma exposição prolongada ou contínua. Contudo, de acordo com o modelo proposto por Moore, Berger, e Wilson (in press), os prematuros vivenciam uma espécie de estresse crônico definido em dias e não em anos.

2. Fisiologia do estresse

Ao deparar com uma situação estressante, uma cadeia de reações fisiológicas ocorrem visando reestabelecer a homeostase. Dois principais sistemas são ativados em resposta ao estresse: o Sistema Nervoso Autônomo (SNA), resultando na liberação de epinefrina e norepinefrina, e o eixo Hipotálamo-Hipófise-Adrenal (HHA), culminando na liberação de glicocorticóides (cortisol nos seres humanos) (de Kloet, 2003). Enquanto ativação do SNA apresenta uma rápida resposta a um estressor, o eixo HHA responde mais lentamente.

Como ilustrado acima na Figura 1, diante de uma situação interpretada como estressante, o hipotálamo libera o hormônio liberador da corticotrofina (CRH), estimulando a hipófise a liberar o Hormônio Adeno-Corticotrófico (ACTH). Esse hormônio estimula a glândula adrenal, culminando na liberação de glicocorticóides.

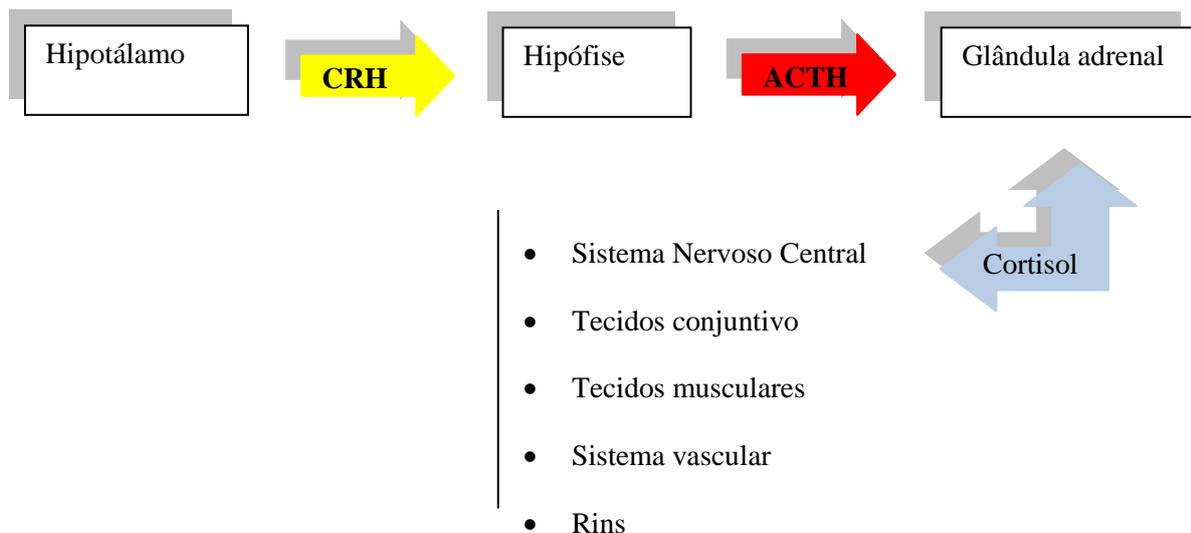


Figura 1. Resumo esquemático do funcionamento do eixo HHA . CRH: hormônio liberador de corticotrofina; ACTH: hormônio Adeno-Corticotrófico.

3. O lado positivo e negativo do estresse e seus hormônios

Tais reações fisiológicas são essenciais para a sobrevivência e adaptação das espécies, pois liberam energia (aumento da concentração de glicose no sangue), aumentam os batimentos cardíacos e o fluxo de sangue para os músculos, preparando o corpo para lidar com os estressores. Contudo, exposição a altos níveis de cortisol e/ou prolongada estimulação do eixo HHA e do SNA podem representar um risco à saúde dos indivíduos (Sapolsky, 2000; Lupien, McEwen, Gunnar, & Heim, 2009). Para ilustrar como concentrações elevadas de

cortisol podem afetar a saúde humana, basta analisar a doença de Cushing. Essa doença caracteriza-se pela presença de tumores na hipófise, levando à hipersecreção crônica de ACTH e, conseqüentemente, ao hipercortisolismo. Os portadores dessa doença são mais suscetíveis a problemas cardíacos, diabetes e déficits de memória (Pimenta, Wolley, & Stowasser, 2012; Resmini et al., 2012).

Nos últimos anos, o impacto do estresse e seus hormônios na memória também foram observados em adultos saudáveis (Wolf, 2009). O estresse e seus hormônios comprometem a habilidade de recuperar as informações armazenadas (do inglês, *recall*) (Kuhlmann, Piel, & Wolf, 2005, Smeets, Otgaar, Candel, & Wolf, 2008). Evidências sugerem que a ação do cortisol é modulada pela atividade noradrenérgica do complexo basolateral da amígdala (Okuda, Roozendaal, & McGaugh, 2004; Roozendaal, Okuda, de Quervain, & McGaugh, 2006; Roozendaal, McEwen, & Chattarji, 2009).

Quanto à memória de trabalho, ou seja, à capacidade de armazenamento temporário e manipulação das informações necessárias para a realização de uma atividade cognitiva complexa (Baddeley, 1992), os resultados são contrastantes. Wolf et al. (2001) observaram que a administração de cortisol em adultos afeta negativamente a memória de trabalho. Corroborando com tal achado, Schoofs, Preuss e Wolf (2008) verificaram que o estresse psicossocial também prejudica a memória de trabalho. Por outro lado, Duncko, Johnson, Merikangas e Grillon (2009), bem como Cornelisse, van Stegeren e Joëls (2011) observaram o contrário, ou seja, que o estresse melhora a memória de trabalho. Há ainda outros estudos que falharam em mostrar qualquer efeito do estresse ou cortisol nessa função mnemônica (Kuhlmann, Piel, & Wolf, 2005; Smeets, Jelicic, & Merckelbach, 2006). Além das diferenças metodológicas usadas nos diferentes estudos, variações genéticas nos níveis de dopamina podem ser uma possível explicação para os contrastes observados (Buckert, Kudielka, Reuter, & Fiebach, 2012).

Além dos efeitos já mencionados, o estresse durante a gravidez é também um fator de risco à prematuridade (Lau, 2013).

4. Estresse psicossocial afeta recuperação das informações armazenadas em crianças a termo

O estudo sobre os efeitos do estresse agudo na memória de crianças tem recebido pouca atenção. Nesta faixa etária, a maioria das pesquisas tem focado apenas em bio-marcadores de estresse: cortisol para a atividade do eixo HHA e alfa-amilase para a atividade do Sistema Nervoso Simpático (SNS), um componente do SNA (Gunnar, Talge, & Herrera, 2009). Poucos estudos investigaram a associação entre estresse e memória na infância (Quas, Bauer, & Boyce, 2004; Quas, Yim, Edelsein, Cahill, & Rush, 2011; Quas, Yim, Rush, & Sumaroka, 2012). Até pouco tempo não se tinha o conhecimento, em crianças, se o estresse e seus hormônios afetam negativamente a recuperação das informações armazenadas. Recentemente, o nosso grupo constatou que sim (Quesada, Wiemers, Schoofs, & Wolf, 2012), corroborando com os achados em adultos (Kuhlmann et al., 2005). Em nosso estudo, o impacto do estresse na habilidade de recuperar as informações armazenadas foi significativo, sendo o tamanho do efeito (d de Cohen = 0,65), considerado moderado de acordo com a classificação de Cohen. Tal efeito moderado espelha aquele relatado em adultos (Het, Ramlow, & Wolf, 2005).

Neste referido estudo, 44 crianças alemãs a termo foram aleatoriamente encaminhadas a uma situação estressante (do inglês, *Trier Social Stress Test for Children – TSST-C*) ou não-estressante (situação controle), após aprenderem a localização de 15 pares de figuras em um jogo de memória. Cortisol e alfa-amilase foram mensurados imediatamente antes e mais três vezes após a exposição ao TSST-C ou situação controle (+01 min, +10 min, +25 min). Comparadas ao grupo controle, as crianças que participaram do TSST-C tiveram um

considerável aumento de cortisol e mais dificuldades em lembrar a posição das figuras. Além disso, observou-se, dentre os participantes do TSST-C, uma positiva correlação entre aumento de cortisol e número de erros cometidos durante a recordação do posicionamento dos pares de figuras no jogo de memória. Em outras palavras, crianças que apresentaram uma maior elevação de cortisol em resposta ao TSST-C tiveram mais dificuldades em reencontrar os pares de figuras no jogo de memória do que aquelas cujo aumento de cortisol foi menos significativo.

Contudo, os dois grupos (TSST-C vs. controle) não diferiram em memória de trabalho, sugerindo que o córtex pré-frontal é menos sensível aos efeitos do estresse agudo do que o hipocampo. Para informações mais detalhadas sobre este estudo, vide Quesada et al. (2012).

5. Estresse pré-natal aumenta o risco de prematuridade

Evidências sugerem que mulheres apresentando altas concentrações de cortisol durante a gravidez são mais suscetíveis a partos prematuros (Entringer, Buss, Andersen, Chicz-DeMet, & Wadhwa, 2011). Um recente estudo foi além, ao observar que os efeitos do estresse pré-natal na idade gestacional são mediados parcialmente por um aumento das citocinas inflamatórias (Coussons-Read et al., 2012). Este estudo suporta o modelo proposto por Latendresse e Ruiz (2011) para explicar como o estresse pré-natal pode levar ao nascimento pré-termo. Segundo tal modelo, a ativação crônica do eixo HHA e do SNS durante a gravidez levaria a alterações fisiológicas tais como aumento da produção do hormônio liberador de corticotrofina na placenta, aumento de citocinas inflamatórias e estimulação adrenal no feto, responsáveis pela antecipação do nascimento.

6. Nascimento pré-termo: uma exposição precoce a eventos estressantes

Além do estresse maternal ser um fator de risco para a prematuridade, recém-nascidos pré-termo vivenciam um cenário marcadamente estressante. Na UTI Neonatal, eles são submetidos a múltiplos procedimentos invasivos como punções venosas, ventilação mecânica, excessiva estimulação sonora e luminosa, além de um contato restrito com os pais (Grunau, Holsti, & Peters, 2006; Newnham, Inder, & Milgrom, 2009). Estima-se, em média, que os pré-termos são expostos a mais de 10 procedimentos dolorosos e invasivos por dia durante os cuidados neonatais (Simons et al., 2003; Smith et al., 2011).

Há, também, evidências de que a prematuridade, cenário altamente estressante para os pais, prejudique a formação do vínculo mãe-bebê (Forcada-Guex, Borghini, Pierrehumbert, Ansermet, & Muller-Nix, 2011), embora estudos nessa área sejam controversos (Korja, Latva, & Lehtonen, 2012). Muitas mães têm dificuldades em lidar com um bebê tão frágil e diferente daquele idealizado, como é o caso dos bebês de baixo peso. Elas temem até mesmo em segurá-los. Além disso, sentem-se subordinadas aos profissionais de saúde da UTI Neonatal (Flacking, Ewald, & Starrin, 2007). Muitas vezes, mantêm-se distantes de seus bebês com medo de atrapalhar os procedimentos médicos. A maioria delas descrevem o cenário da prematuridade como uma experiência traumática. Como resultado de tais vivências, muitas passam a apresentar sintomas de estresse e depressão (Jubenville, Neburn-Cook, Hegadoren, & Lacaze-Masmonteil, 2012). Tais sintomas depressivos podem ser um risco para o desenvolvimento cognitivo de sua prole (McManus & Poehlmann, 2012). Esse comprometimento do vínculo mãe-bebê, no entanto, não é restrito apenas aos primeiros meses de vida. Índícios sugerem que esse comprometimento permanece ao longo da infância (Potharst et al., 2012)

7. Funcionamento do eixo Hipotálamo-Hipófise-Adrenal (HHA) e do Sistema Nervoso Simpático (SNS) em indivíduos pré-termo na infância: há ainda muito a pesquisar

Estudos animais e humanos sugerem que exposição a altos níveis de estresse durante a gestação ou período neonatal pode “programar” o funcionamento do eixo HHA na prole (Kapoor, Dunn, Kostaki, Andrews, & Matthews, 2006; Glover & Hill, 2012; Glover, O’Connor & O’Donnell, 2010). Indivíduos a termo com baixo peso ao nascer, um marcador de estresse pré-natal, apresentam elevados índices de cortisol basal na fase adulta (Phillips et al., 2000). Já em pré-termos com idade corrigida inferior a 8 meses, observa-se baixos níveis de cortisol basal quando comparados a bebês a termo (Grunau et al., 2007). Acredita-se que após essa idade, o eixo HHA passe a funcionar de forma exacerbada em pré-termos, pelo menos até os 18 meses de idade corrigida (Grunau, Weinberg, & Whitfield, 2004; Grunau et al., 2007). A exposição a inúmeros procedimentos invasivos e dolorosos durante os cuidados neonatais pode contribuir para estas alterações (Grunau et al., 2004). Por outro lado, o funcionamento do eixo HHA e do SNS nesses indivíduos ao longo da infância (Buske-Kirschbaum et al., 2007) é pouco estudado. Portanto, se pré-termos apresentam alterações do eixo HHA e do SNS ao longo da vida é ainda uma incógnita, apesar de alguns indícios na fase adulta sugerirem que sim. Wüst, Entringer, Federenko, Schlotz, e Hellhammer (2005) encontraram significativo aumento de cortisol em resposta a um evento estressante em adultos, enquanto Pyhälä et al. (2009) observaram elevada pressão sanguínea.

8. Como indivíduos pré-termo respondem a um evento estressante na infância

Uma interessante pesquisa mostrou, recentemente, que o uso de glicocorticóides durante a gestação pode afetar o funcionamento do eixo HHA ao longo da vida, mesmo em indivíduos a termo (Alexander et al., 2012). Segundo tais achados, crianças a termo e que receberam glicocorticóides prenatalmente apresentaram altos níveis de cortisol em resposta a

um estressor (do inglês, *Trier Social Stress Test for Children, TSST-C*) quando comparados àquelas que não foram expostas a glicocorticóides. Já Buske-Kirschbaum et al. (2007), usando o mesmo teste de estresse, não observaram significativas diferenças em resposta ao TSST-C entre crianças pré-termo e a termo. Portanto, se pré-termos são mais responsivos ao estresse na infância ainda é uma incógnita, requerendo mais pesquisas nessa área.

9. Principais déficits cognitivos e distúrbios comportamentais observados em indivíduos pré-termo

Aspectos vinculados à prematuridade, como exposição precoce ao estresse e imaturidade dos sistemas nervoso, metabólico, imunológico, e do eixo HHA podem afetar o desenvolvimento de forma geral. De fato, indivíduos pré-termos são mais suscetíveis a problemas comportamentais, emocionais e cognitivos do que aqueles nascidos a termo (Bhutta et al., 2002; Saigal & Doyle, 2008; Potijk, Winter, Bos, Kerstjens & Reijneveld, 2012). Déficits cognitivos em pré-termos são descritos ao longo da vida: infância (Haley, Grunau, Oberlander, & Weinberg, 2008; Grunau et al., 2009; Baron, Erickson, Ahronovich, Baker, & Litman, 2011; Lundequist, Böhm, & Smedler, in press), adolescência (Luu, Ment, Allan, Schneider, & Vohr, 2011) e na fase adulta (Strang-Karlsson et al., 2010). Em consonância, Tanskanen et al. (2011) observaram baixo desempenho acadêmico mesmo em pré-termos que não tinham nenhuma alteração estrutural no cérebro.

Dentre as funções cognitivas, a literatura aponta principalmente déficits na memória visual e na função executiva (Taylor, Minich, Klein, & Hack, 2004; Luu, Ment, Allan, Schneider, & Vohr, 2011; Olivieri et al., 2012). No que concerne à memória de trabalho, os achados são controversos. Vicari, Caravale, Carlesimo, Casadei e Allemand (2004), e Sansavini et al. (2007) observaram, respectivamente, déficits em memória de trabalho visuo-espacial e fonológica. Diferentemente, outros estudos não encontraram comprometimentos na

memória de trabalho verbal em crianças pré-termo (Ni, Huang, & Guo, 2011; de Kieviet, van Elburg, Lafeber, & Oosterlaan, 2012).

Além dos déficits cognitivos, a prevalência de transtornos comportamentais e psiquiátricos é alta entre os indivíduos pré-termos (de Jong, Verhoeven, & van Baar, 2012). Depressão, ansiedade, transtorno bipolar e transtorno de déficit de atenção e hiperatividade (TDAH) são os principais distúrbios observados em pré-termos na adolescência e na fase adulta (Galéra et al., 2011; Nosarti et al., 2012; Sullivan, Msall, & Miller, 2012).

II. Justificativa

De acordo com o levantamento literário, a prematuridade consiste em um problema relevante de saúde pública, não só pela alta prevalência e pelos altos níveis de letalidade (Escobar, Clark, & Greene, 2006; Beck et al., 2010), mas em virtude de representar um fator de risco ao desenvolvimento dos indivíduos. Apesar disso, pouco ainda é conhecido sobre o funcionamento do eixo Hipotálamo-Hipófise-Adrenal (HHA), do Sistema Nervoso Simpático (SNS), perfil mnemônico e comportamental desses indivíduos na infância.

Portanto, promover a compreensão dos possíveis prejuízos ocasionados pela prematuridade e por suas consequências, como a exposição precoce ao estresse, é de extrema relevância. A construção de um conhecimento baseado na detecção de alterações fisiológicas, das principais funções mnemônicas e comportamentais afetadas nesta condição clínica pode contribuir para uma intervenção mais apropriada e refinada às necessidades das crianças, e pode também contribuir para minimizar as sequelas da prematuridade.

III. Perguntas de pesquisa

Baseado nisso, foram levantadas as seguintes questões:

- Crianças nascidas prematuramente, condição caracterizada pela exposição precoce ao estresse, apresentam alterações no funcionamento do eixo HHA e SNS?
- Crianças pré-termo são mais responsivas ao estresse do que crianças a termo?
- Quais as principais funções mnemônicas, emocionais e comportamentais afetadas na infância pelo cenário da prematuridade?

IV. Objetivos

1. Objetivo geral

- Avaliar os efeitos da prematuridade no funcionamento do eixo HHA e SNS, na memória e, no desenvolvimento comportamental e emocional em crianças.

2. Objetivos específicos

- Verificar se crianças pré-termo e a termo diferem em relação aos níveis basais de cortisol (marcador do funcionamento do eixo HHA) e alfa-amilase (marcador do funcionamento do SNS) ;
- Comparar as concentrações de cortisol e alfa-amilase em resposta a um estressor entre crianças pré-termo e a termo;
- Comparar o desempenho mnemônico de crianças pré-termo e a termo;
- Verificar se existem diferenças quanto a problemas emocionais e comportamentais entre crianças pré-termo e a termo;
- Investigar a associação entre comprometimentos mnemônicos, emocionais ou comportamentais e variáveis como: estresse pré-natal, baixo peso ao nascimento, tempo de hospitalização, e variação de cortisol em resposta ao TSST-C.

- Investigar se há influência do gênero nos resultados.

V. Material e Métodos

1. Participantes

No presente estudo de coorte histórica, participaram 30 crianças de seis a dez anos de idade, de ambos os sexos, nascidas pré-termo no Hospital Regional da Asa Sul (HRAS) ou no Hospital Universitário de Brasília (HUB). Os resultados dessas crianças foram comparados aos de um grupo-controle formado por 31 crianças nascidas a termo, pareadas em idade e sexo. Todas as crianças participaram voluntariamente e o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice 2) foi assinado pelos responsáveis e pela criança após o esclarecimento dos objetivos, das fases de pesquisa, e quaisquer dúvidas. A assinatura da criança foi solicitada com o intuito de fortalecer o seu engajamento e verificar seu interesse em participar da pesquisa. Esse projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Secretaria de Estado de Saúde (Projeto de pesquisa CEP/SES/DF 094/11) e pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília (Projeto de pesquisa CEP/FM 186/2008).

2. Critérios de inclusão e exclusão

Para as crianças pré-termo (grupo experimental) foram adotados os seguintes critérios de inclusão: idade gestacional entre 26 e 36 semanas e índice Apgar no quinto minuto igual ou superior a 7. Para as crianças a termo (grupo controle), também adotou-se como critério de inclusão Apgar no quinto minuto igual ou superior a 7. Crianças pré-termo ou a termo com alterações motoras moderadas ou graves, com deficiência auditiva ou visual, com qualquer doença crônica ou aguda, ou sob o uso de medicamentos foram excluídas do estudo.

3. Procedimentos e materiais

A presente pesquisa consistiu no levantamento de dados clínicos e sociodemográficos, na avaliação do funcionamento do eixo HHA e SNS, e na determinação do perfil mnemônico, emocional e comportamental dos participantes. Os funcionamentos do eixo HHA e do SNS foram avaliados, respectivamente, por meio de dosagem de cortisol e sAA, em duas fases distintas. Primeiramente, traçou-se o perfil de cortisol e sAA ao longo do dia, em quatro momentos diferentes, durante dois dias consecutivos. Uma semana após, avaliaram-se as respostas fisiológicas dessas crianças (cortisol e sAA) a um estressor psicossocial, o *Trier Social Stress Test for Children* (TSST-C) (vide Figura 2). Os resultados do grupo pré-termo foram comparados aos do grupo controle.

3.1 Levantamento dos dados sociodemográficos e clínicos

O prontuário de cada participante foi analisado por um único examinador para o levantamento das seguintes informações pré- e pós-natais: uso de corticóides, álcool, drogas ou cigarros durante a gravidez; idade gestacional; tipo de parto (vaginal ou cesariana), Apgar (5º min), peso e tamanho ao nascimento, classificação dos recém-nascidos, e tempo de hospitalização. Baseado no peso ao nascimento, os participantes foram classificados como pequeno para a idade gestacional (PIG), adequado para a idade gestacional (AIG) ou grande para a idade gestacional (GIG). O índice de estresse pós-natal foi determinado pelo tempo de hospitalização.

Já vivências de estresse materno durante a gestação de cada participante e dados sociodemográficos foram coletados por meio de uma entrevista semi-estruturada baseada em um questionário construído e validado para tal fim. Obtiveram-se as seguintes informações sociodemográficas: idade e escolaridade dos participantes; tipo de escola frequentada por eles (pública ou privada); escolaridade da mãe e do pai de cada criança. Para a determinação do

índice de estresse pré-natal, questionou-se às mães se elas haviam experienciado algum evento estressante durante a gestação. Em caso positivo, solicitou-se que elas os relatassem. A partir disso e com base na Escala de Avaliação de Readaptação Social desenvolvida por Thomas Holmes e Richard Rahe (1967) quantificou-se o estresse vivenciado prenatalmente.

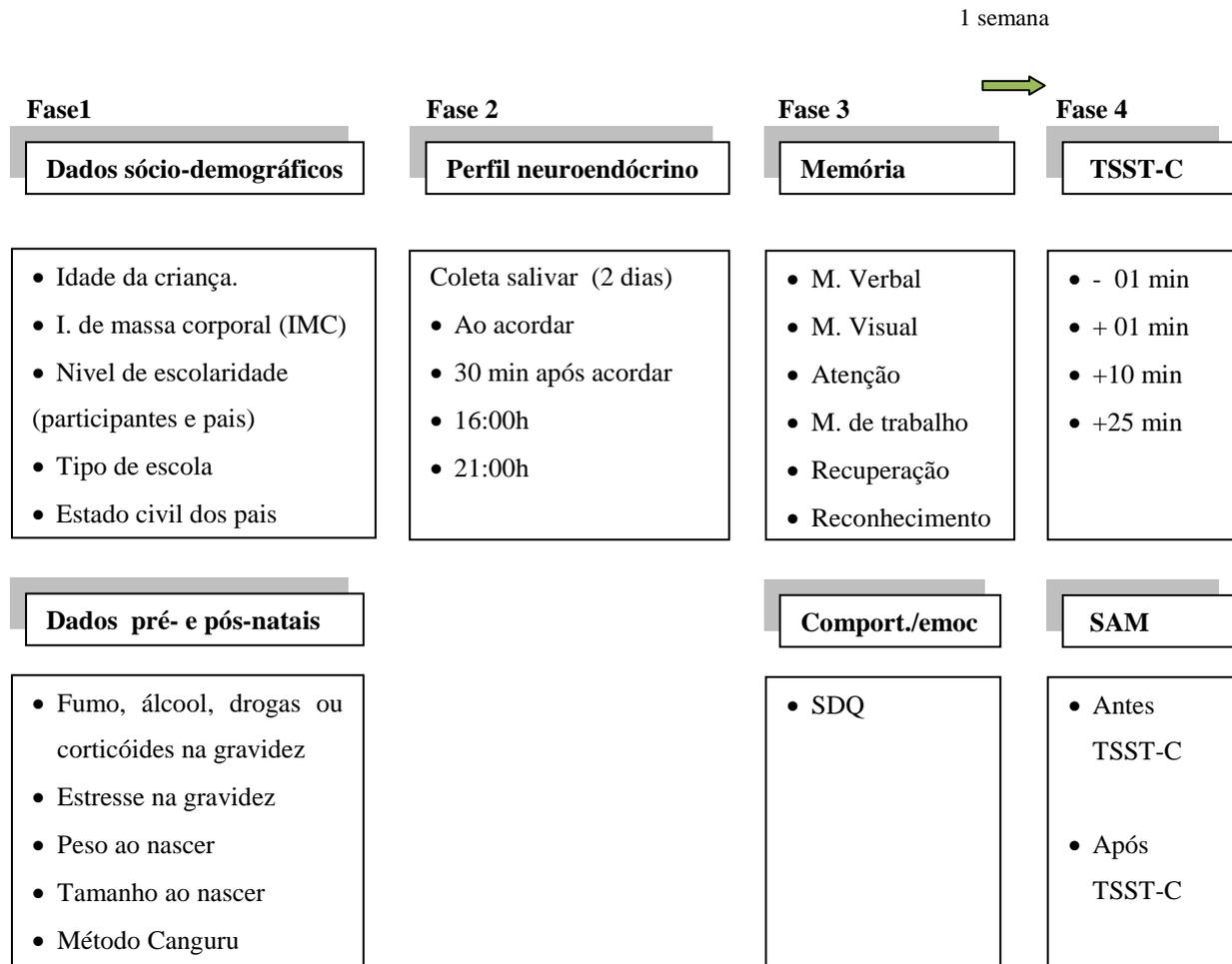


Figura 2. Resumo dos procedimentos

A escala Holmes-Rahe atribui um valor específico a cada estressor, considerando seu impacto na vida: morte do companheiro (100 pontos), divórcio (73 pontos), cumprir pena (63 pontos), morte de um familiar (63 pontos), acidente ou doença pessoal (53 pontos), casamento (50 pontos), ser demitido (47 pontos), aposentadoria (45 pontos), gravidez (40

pontos), mudança de *status* financeiro (38 pontos), morte de um amigo íntimo (37 pontos), mudança de categoria de trabalho (36 pontos), hipoteca ou empréstimo para uma compra importante (30 pontos), mudanças de responsabilidades no trabalho (29 pontos), grande conquista pessoal (28 pontos), mudança nas condições de vida (25 pontos), problemas com o chefe (23 pontos), dentre outros. Além disso, o uso de cigarros, álcool, drogas ou corticóides durante a gravidez foi também confirmado com as mães. Após a entrevista, cada criança foi pesada e medida para o cálculo do índice de massa corporal (IMC).

3.2 Avaliação do perfil neuroendócrino e autonômico : cortisol e alfa-amilase.

A avaliação do perfil neuroendócrino e autonômico dos participantes foi realizada por meio de dosagem de cortisol (biomarcador do funcionamento do eixo HHA) e alfa-amilase (biomarcador indireto do SNS). Para tanto, amostras salivares de cada participante foram coletadas em dois dias consecutivos, em quatro momentos diferentes: imediatamente ao acordar, 30 minutos após o acordar, 16:00h e 21:00h. A coleta ocorreu na casa de cada participante.

Antes da coleta salivar, os participantes foram orientados a: não escovar os dentes por 2h antes da coleta, para evitar sangramento gengival; não ingerir alimentos ou bebidas (exceto água) por um período de 1h30min antes da coleta; permanecer em repouso por 1h antes da coleta e não realizar tratamento dentário por 24h antes da coleta (Kirschbaum e Hellhammer, 1994).

Utilizando tubos Salivette® (Sarstedt, Nümbrecht, Alemanha), as amostras foram coletadas pelo mesmo examinador ou pelos pais das crianças, os quais receberam informações e treinamento específico para tal fim. As amostras foram armazenadas a -80° C até o processamento. Posteriormente, foram enviadas ao laboratório para processamento, dosagem de cortisol e alfa-amilase. A determinação quantitativa de cortisol na saliva foi

realizada utilizando um imunoensaio específico para o teste (IBL, Hamburg, Alemanha). Os resultados foram expressos em nmol/L e comparados com a curva padrão do fabricante. A alfa-amilase foi dosada no equipamento Cobas Systems (Roche, Basel, Switzerland), utilizando o kit específico e empregando a metodologia cinético-enzimática. O equipamento foi calibrado utilizando Calibrador f.a.s. (Roche Diagnostics) e a leitura foi realizada na etapa inicial a 37°C e 2-5 minutos após, em filtro de 405nm. Os resultados foram expressos em U/mL (ROHLEDER & NATER, 2009). Em ambas as dosagens, foram seguidas as recomendações do fabricante, do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) e do International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC).

3.3 Determinação do perfil comportamental e emocional

A determinação do perfil comportamental e emocional dos participantes foi realizada por meio do Questionário de Capacidades e Dificuldades (do inglês *Strengths and Difficulties Questionnaire* – SDQ; Goodman, 1997), o qual foi preenchido pelos responsáveis pelos participante (vide Anexo 1). Além de ser breve e de apresentar uma forte correlação (.87) com o *Child Behaviour Checklist* (CBCL; Achenbach, 1991), o SDQ apresenta outra vantagem: trata-se de um eficiente instrumento na detecção de Transtorno de Déficit de Atenção e Hiperatividade (TDAH) (Goodman & Scott, 1999). O SDQ avalia cinco dimensões, a saber: sintomas emocionais, dificuldades de comportamento, hiperatividade e dificuldade de concentração, dificuldade de relacionamento com outras crianças e comportamentos positivos. A soma das quatro primeiras dimensões fornece um escore geral para as dificuldades. Cada escala, por sua vez, é composta por cinco itens. Cada item têm três opções de resposta: falso, parcialmente verdadeiro, completamente verdadeiro.

3.4 Avaliação do perfil mnemônico

Como ilustrado na Figura 3, o perfil mnemônico de crianças pré-termo em comparação à termo foi investigado por meio da bateria de testes *Wide Range Assessment of Memory and Learning – Second Edition* (WRAML2); Sheslow & Adams, 2003). Vastamente utilizada em pesquisas, o WRAML2 compreende seis subtestes principais e 11 suplementares. Quatro dos subtestes suplementares, ou seja, *Verbal Working Memory*, *Sound Symbol*, *Sound Symbol Recall* e *Sentence Memory* foram excluídos do protocolo do presente estudo com o intuito de evitar um excessivo tempo de avaliação.

O WRAML2 avalia seis funções: memória verbal (*Story Memory* e *Verbal Learning*), memória visual (*Design Memory* e *Picture Memory*), atenção e concentração (*Finger Windows* e *Number Letter*), memória de trabalho (*Verbal Working Memory* e *Symbolic Working Memory*), reconhecimento (*Story Recognition*, *Design Recognition*, *Picture Memory Recognition*, e *Verbal Learning Recognition*), e recuperação das informações armazenadas (do inglês *recall*; *Story Memory Recall*, *Verbal Learning Recall*). Enquanto a habilidade de recuperação das informações armazenadas é avaliada apenas para estímulos verbais, a capacidade de reconhecimento é investigada para ambos os estímulos (verbal e visual). Além das funções citadas acima, o WRAML2 possibilita a obtenção de um índice de Memória Geral, calculado a partir dos índices de Memória Verbal, Memória Visual, e Atenção e Concentração.

Para permitir comparações entre os resultados obtidos, bem como entre diferentes faixas-etária, os desempenhos em cada subteste foram expressos em pontos ponderados, seguindo as Tabelas de Normas e Conversões contidas no manual do WRAML2 (Sheslow & Adams, 2003). Contudo, o desempenho no subteste *Verbal Learning Recall* foi expresso em escores brutos, considerando o fato de que o WRAML2 não fornece escores ponderados parciais para

tal subteste (isto é, em cada etapa do aprendizado) e o nosso interesse na curva de aprendizagem. O mesmo procedimento foi adotado para os resultados obtidos em *Symbolic Working Memory* (memória de trabalho), uma vez que não há pontos ponderados disponíveis para crianças com idade inferior a 9 anos de idade. Ressalta-se, ainda, que foram adotadas as normas de conversão americanas, devido à ausência de normas para crianças brasileiras.



Figura 3. Aplicação da bateria de testes Wide Range Assessment of Memory and Learning (WRAML2). Subteste *Picture Memory*: avaliação de memória visual.

3.5 Mensuração de cortisol e sAA em resposta ao Trier Social Stress Test for Children

Com o intuito de verificar como indivíduos pré-termo reagem a um estressor na infância, os participantes foram expostos ao *Trier Social Stress Test for Children* (TSST-C, Buske-Kirschbaum et al., 1997). Trata-se de uma versão do *Trier Social Stress Test* (Kirschbaum, Pirke, & Hellhammer, 1993) adaptada para crianças. Desenvolvido por Buske-Kirschbaum et al. (1997), o TSST-C é amplamente utilizado para induzir cortisol e sAA em crianças. Ele engloba 3 fases, com duração de 5 minutos cada, totalizando 15 minutos: preparação, apresentação oral, e cálculos aritméticos. Na fase de preparação, os participantes escutam o início de uma história e são orientados a continuarem-na, criando um fim surpreendente para

ela. Uma vez expirado os 5 min, os participantes são convidados a apresentarem sua estória para um comitê formado, neste estudo, por dois estudantes de Medicina (um homem e uma mulher), os quais comportaram-se de forma neutra e reservada. Após o término dos 5 min de apresentação oral, os participantes são orientados a realizarem cálculos aritméticos mentalmente. Neste estudo, a complexidade dos cálculos variou de acordo com a faixa etária das crianças. Aquelas entre seis e sete anos de idade foram instruídas a subtrair em série o número 3 de 758 e relatar os resultados em voz alta (755, 752, 749...). Já a tarefa solicitada às crianças com idade entre 8 e 10 anos foi subtrair o número 7 de 758, também em série, cujos resultados foram relatados em voz alta para os examinadores (751, 744, 737...). Em caso de uma resposta incorreta, as crianças foram avisadas e orientadas a refazer todos os cálculos desde o início.

As sessões de TSST-C foram realizadas no período vespertino (entre 13:30h e 18:00h), com o intuito de controlar possíveis efeitos do ciclo circadiano nos níveis de cortisol (Tzorti et al., 2009). Salivas foram coletadas, usando Salivette®, imediatamente antes da exposição ao TSST-C (-1 min), bem como, 1 min, 10 min e 25 após o término do TSST-C. O comitê não teve acesso à informação sobre a qual grupo pertencia cada participante (pré-termo ou grupo controle).

Além dos níveis de cortisol e sAA, avaliou-se as reações emocionais de cada criança diante do TSST-C por meio de uma escala visual conhecida como *Self-Assessment Manikin* (SAM). Para tanto, o SAM foi aplicado em dois momentos diferentes: antes e após o TSST-C. Os participantes foram orientados a escolher um boneco de cada dimensão (prazer vs. desprazer; alerta vs. relaxamento; e dominância) que representasse seu estado emocional. Cada dimensão é composta por cinco bonecos, os quais representam diferentes estados emocionais: um boneco sorrindo, extremamente feliz (1 ponto) a um boneco com face fechada, extremamente triste (5 pontos); um boneco com o peito estourando de emoção,

ansioso (1 ponto) a um boneco relaxado, sonolento (5 pontos); e finalmente, um boneco grande (1 ponto) representando o auto-controle da criança a um boneco pequeno com o significado de inferioridade, indicando a ausência de controle da situação pela criança (5 pontos) (Bradley & Lang, 1994; Anexo 2).

3.6 Análises estatísticas

A comparação das informações sociodemográficas, pré- e pós-natais entre os dois grupos (grupo pré-termo *vs.* grupo controle) foi realizada por meio do teste *t* para variáveis contínuas e do teste qui-quadrado de Pearson para variáveis categóricas. Dentre as variáveis contínuas pode-se citar: idade, IMC, idade gestacional, peso ao nascimento, tamanho ao nascimento e tempo de hospitalização. As variáveis categóricas do presente estudo foram: tipo de escola frequentado pelas crianças (pública *vs.* particular), educação dos participantes, educação da mãe, educação do pai, e uso de glicocorticóides, cigarros, álcool ou drogas durante a gravidez. Tais análises revelaram que os dois grupos diferiram em relação à educação do pai e da mãe e, portanto, essas variáveis foram tratadas como co-variáveis em todas as posteriores análises estatísticas.

As análises de cortisol e alfa-amilase para cada período do dia coletado (ao acordar, 30 min após o acordar, 16:00h, 21:00h), foram realizadas usando a média dos valores obtidos nos dois dias consecutivos $((d_1 + d_2)/2)$. Em uma criança do grupo controle, tal valor foi superior a 3 DPs (desvio-padrão) da média de seu grupo. Diante disso, tal valor foi corrigido, ou seja, foi substituído pela média mais 2 DPs. Além disso, o teste Shapiro-Wilk revelou que os valores de cortisol e alfa-amilase desviaram-se da normalidade ($p < 0,05$). Portanto, os dados foram transformados logaritmicamente e estes foram utilizados nas análises relatadas a seguir. Diferenças no perfil neuroendócrino (cortisol e sAA) de crianças pré-termo e a termo foram verificadas por meio da análise de covariância (ANCOVA) mista, com prematuridade

e gênero como variáveis independentes entre participantes e horários de coleta salivar (ao acordar, 30 min após acordar, 16:00h e 21:00h) como uma variável independente dentre participantes. A variável dependente foi o cortisol ou sAA medidos nas salivas das crianças. Como informado anteriormente, educação do pai e da mãe foram tratadas como co-variáveis. Essa mesma análise também foi conduzida para verificar se crianças pré-termo divergem em respostas fisiológicas (cortisol e sAA) ao TSST-C de crianças a termo, bem como se há diferenças entre os gêneros em tais respostas. As reações emocionais ao TSST-C investigadas pelo SAM (antes e após o TSST-C) foram analisadas usando ANCOVA mista. Além disso, três ANOVAs foram conduzidas separadamente apenas para as crianças pré-termo, para verificar se o uso de glicocorticóides na gestação afeta ou não os níveis de cortisol basal (ao acordar, 30 min após acordar, 16:00h, 21:00h) e os níveis de cortisol em resposta a um estressor. Em todos os casos em que a hipótese de esfericidade foi violada, corrigiu-se os graus de liberdade usando o *Greenhouse-Geiser*.

Com o intuito de avaliar se as crianças pré-termo apresentam mais problemas comportamentais e emocionais do que o grupo controle e considerando a não-normalidade dos dados, aplicou-se o teste Mann-Whitney.

Baseado na organização estrutural do WRAML2, as diferenças no desempenho mnemônico entre crianças pré-termo e o grupo controle foram avaliadas em três passos. Primeiramente, comparou-se o desempenho nos escores gerais (Memória Verbal, Memória Visual, Atenção e Concentração, Memória Geral, Reconhecimento Verbal e Reconhecimento Visual) usando a análise multivariada de covariância (MANCOVA). Posteriormente, três MANCOVAs foram conduzidas separadamente com a prematuridade como variável independente e dois subtestes relacionados como variáveis dependentes. Dessa forma, foi possível comparar o desempenho nos subtestes principais do WRAML2 entre os dois grupos (pré-termos e a termo). O desempenho em memória de trabalho foi analisado usando

ANCOVA, uma vez que apenas um subteste foi aplicado para investigar tal função. Finalmente, mais duas ANCOVAs mistas, uma para cada subteste (*Story Memory Recall* e *Verbal Learning Recall*), foram conduzidas para analisar a recuperação das informações armazenadas. Nestas duas ANCOVAs, tentativas de aprendizagem foram tratadas como medidas repetidas (memória imediata vs. recuperação das informações com atraso), e prematuridade (pré-termo vs. a termo) e gênero (meninos vs. meninas) como fatores independentes. As mesmas estatísticas foram conduzidas para reconhecimento verbal (*Story Recognition* e *Verbal Learning Recognition*) e visual (*Design Recognition* e *Picture Memory Recognition*).

Análise de regressão múltipla foi conduzida para avaliar a influência dos fatores relacionados à prematuridade na memória e no perfil emocional. Diagnóstico de prematuridade (0 vs. 1) foi inserido primeiramente (primeiro passo). Os outros possíveis fatores explicativos avaliados foram: aumento de cortisol em resposta ao TSST-C (área sob a curva – AUC), peso ao nascimento, estresse pré-natal (Holmes-Rahe) e estresse pós-natal (tempo de hospitalização).

Todas as análises foram realizadas no SPSS 20 (IBM).

VI. Resultados

1. Análise descritiva da amostra

De acordo com a Tabela 1, a maioria da amostra caracterizou-se como filhos de pais casados (56%) e estudantes de escolas públicas (70%). Comparando os dois grupos (pré-termo vs. grupo controle), nenhuma diferença estatisticamente significativa foi observada em: idade, gênero, escolaridade das crianças, IMC, tipo de escola (particular vs. pública) e estado civil dos pais.

Tabela 1. Comparação dos dados sociodemográficos entre crianças pré-termo (N = 30) e a termo (N = 31).

Características	Crianças pré-termo	Crianças a termo	p
Idade em anos e meses (DP)	8;3 (1;2)	8;5 (1;3)	0,64
IMC em Kg/m² (DP)	16,69 (2,48)	16,96 (2,40)	0,66
Gênero			0,52
Feminino	13	16	
Masculino	17	15	
Escolaridade dos participantes			0,85
Pré-escola	1	0	
1º ano	4	6	
2º ano	9	7	
3º ano	10	10	
4º ano	4	5	
5º ano	2	3	
Tipo de escola			0,93
Pública	21	22	
Privada	9	9	
Estado civil dos pais			0,64
Solteiro (a)	6	4	
Casado (a)	18	16	
Divorciado (a)	1	2	
Viúvo (a)	0	1	
Outros	5	8	
Escolaridade da mãe			< 0,01
Ensino fundamental incompleto	7	1	
Ensino fundamental completo	2	1	
Ensino médio incompleto	2	0	
Ensino médio completo	15	10	
Ensino superior incompleto	2	5	
Ensino superior completo	1	11	
Pós-graduação	1	3	
Escolaridade do pai			< 0,01
Ensino fundamental incompleto	12	3	
Ensino fundamental completo	3	2	
Ensino médio incompleto	4	0	
Ensino médio completo	7	6	
Ensino superior incompleto	0	2	
Ensino superior completo	3	13	
Pós-graduação	1	5	

IMC: índice de massa corporal

Por outro lado, o nível de escolaridade das mães e dos pais de crianças a termo (grupo controle) foram estatisticamente superior ao nível de escolaridade dos pais e das mães de crianças pré-termo.

Com relação às variáveis pré- e pós-natais investigadas no presente estudo, não houve diferenças significativas quanto ao uso de álcool e cigarros durante a gestação (vide Tabela 2). Como esperado, crianças pré-termo apresentaram maior tempo de hospitalização. Além disso, as mães das crianças pré-termo apresentaram uma tendência de maior nível de estresse durante a gestação quando comparado às mães das crianças a termo ($p = 0,07$).

Tabela 2. Comparação dos dados pré- e pós-natais entre crianças pré-termo (N = 30) e a termo (N = 31).

Variáveis pré-natais	Crianças pré-termo	Crianças a termo	<i>p</i>
Fumo na gravidez	3	3	0,96
Álcool na gravidez	1	0	0,32
Corticosteróides na gravidez	7	1	0,02
Holmes-Rahe stress scale (EP)	21,17 (4,38)	11,03 (3,33)	0,07
Variáveis pós-natais			
Idade gestacional em semanas (DP)	32,23 (3,03)	39,23 (1,02)	< 0,01
Tamanho ao nascer em cm (DP)	40,15 (4,68)	48,82 (4,12)	< 0,01
Peso ao nascer em g (DP)	1656,27 (722,45)	3304,26 (528,25)	< 0,01
Classificação dos recém-nascidos			< 0,01
PIG	9	0	
AIG	19	28	
GIG	2	3	
Tempo de hospitalização em dias (DP)	38,53 (33,39)	0,26 (0,81)	< 0,01
Método Canguru	20	0	< 0,01

PIG: pequeno para a idade gestacional; AIG: adequado para a idade gestacional; GIG: grande para a idade gestacional.

2. Prematuridade e perfil neuroendócrino e autonômico na infância

ANCOVA 2 (pré-termo vs. a termo) x 2 (meninos vs. meninas) x 2 (ao acordar, 30 min após acordar) revelou, dentre participantes, um aumento relevante das concentrações de cortisol do acordar a 30 min após o acordar ($F_{(1/52)} = 8,32$; $p = 0,006$). Observou-se também

um efeito significativo de interação entre prematuridade e período do dia ($F_{(1/52)} = 5,29$; $p = 0,026$), indicando que o efeito da prematuridade nas concentrações de cortisol só foi observado imediatamente ao acordar ($F_{(1/52)} = 6,66$; $p = 0,013$), mas não 30 min após o acordar ($p > 0,20$). Em outras palavras, crianças pré-termo apresentaram maiores concentrações de cortisol ao acordar do que crianças a termo ($F_{(1/52)} = 6,66$; $p = 0,013$), sendo tal diferença mais significativa para as meninas ($F_{(1/52)} = 4,43$; $p = 0,040$), como ilustrado na Figura 4. Quanto às análises do efeito do uso de corticóides na gravidez, não observou-se diferenças significativas nos níveis de cortisol apresentados pelos participantes pré-termo expostos prenatalmente a corticóides e aqueles pré-termo não-expostos. É importante ressaltar que três crianças (duas pré-termo e 1 a termo) foram excluídas das análises estatísticas para determinação do perfil de cortisol no período matutino, uma vez que a quantidade de saliva coletada foi insuficiente para a análise laboratorial.

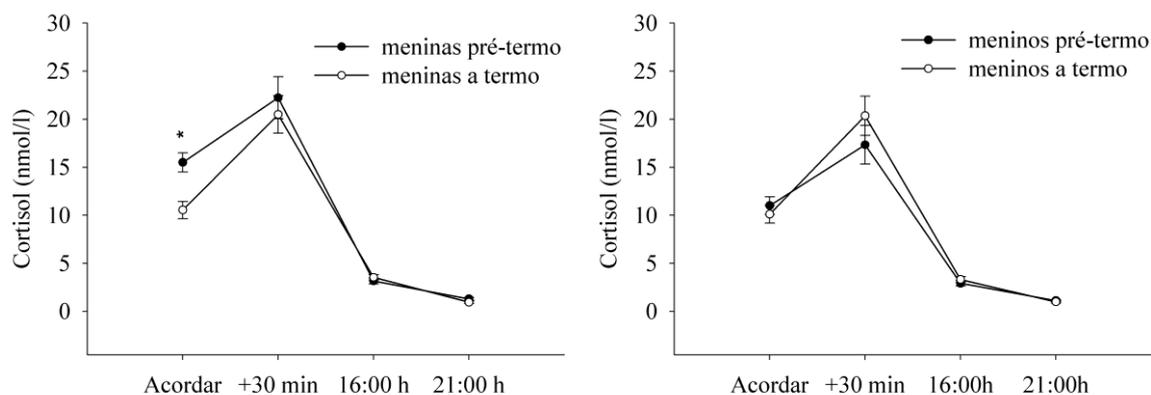


Figura 4. Perfil de cortisol salivar de crianças pré-termo e a termo, de acordo com o gênero: meninas e meninos, respectivamente. As análises estatísticas foram conduzidas usando o logaritmo dos dados (log +1). As barras de erros representam o erro padrão da média (EP). Observou-se uma significativa interação entre prematuridade e o período do dia, bem como uma tendência de interação entre prematuridade e gênero. Análises post-hoc revelaram que meninas pré-termo apresentaram concentrações mais altas de cortisol ao acordar quando comparadas com meninas a termo. * $p < 0,05$ entre meninas pré-termo e a termo.

Quanto à avaliação do cortisol nos períodos vespertino (16:00h) e noturno (21:00h), post-hoc análises não apontaram significativas diferenças nas concentrações de cortisol coletada às 16:00h ($p = 0,27$), nem às 21:00h ($p = 0,082$) entre crianças pré-termo e a termo (Figura 4). Além disso, dentre as crianças pré-termo, nenhum efeito da exposição pré-natal a corticóides foi verificado nas concentrações de cortisol mensuradas às 16:00h e às 21:00h.

Nenhuma diferença significativa foi observada nas concentrações de alfa-amilase (sAA). É importante ressaltar que as quantidades coletadas de saliva de seis crianças (três pré-termo e três a termo) não foram suficientes para medição da sAA, o que acarretou a exclusão destes participantes apenas nas análises estatísticas conduzidas para tal enzima.

3. Prematuridade e perfil comportamental/emocional (SDQ) na infância

De acordo com o teste Mann-Whitney, crianças pré-termo (mediana = 5,0) apresentaram mais sintomas emocionais do que crianças a termo (mediana = 4,0; $z = -2,1$; $p = 0,037$).

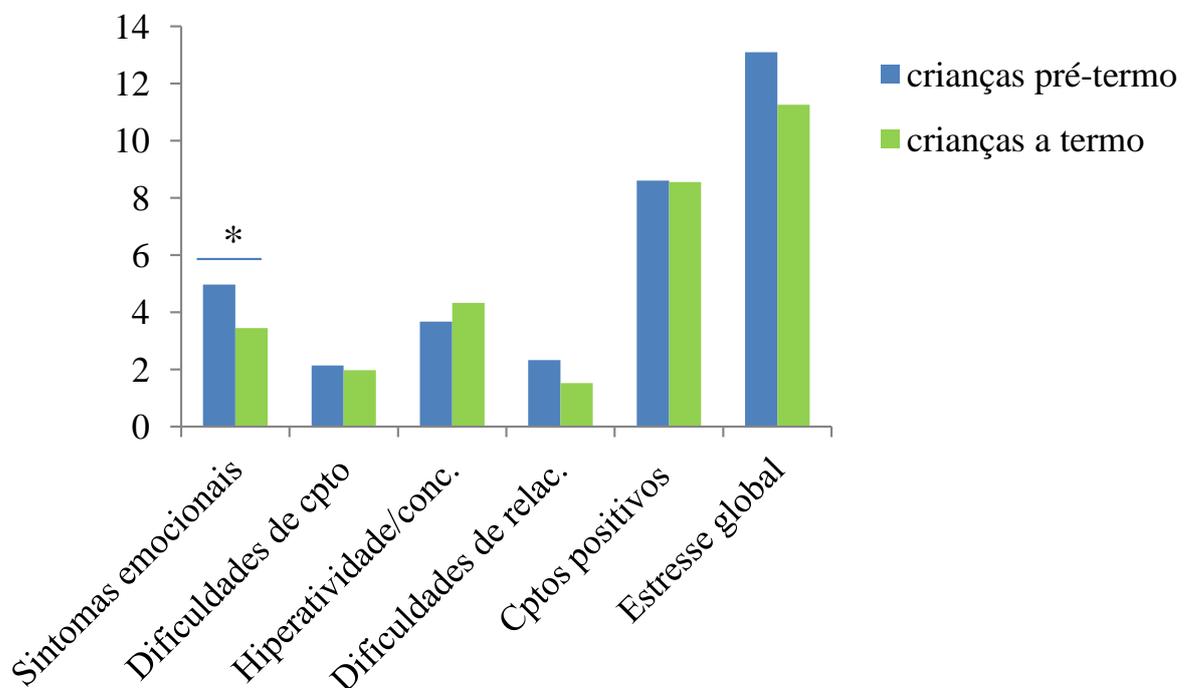


Figure 5. Perfil comportamental/emocional de crianças pré-termo e a termo. O índice de sintomas emocionais foi mais alto em crianças pré-termo. $*p < 0,05$ entre crianças pré-termo e a termo.

Contudo, nenhuma diferença estatisticamente significativa foi observada nas outras escalas do SDQ.

4. Prematuridade e perfil de memória na infância

Comparando-se os dois grupos (crianças pré-termo vs. crianças a termo), observou-se que as crianças pré-termo apresentaram desempenho inferior ao mostrado pelas crianças a termo nas seguintes funções: memória geral ($p = 0,006$) e memória visual ($p = 0,003$) (Figura 6). Observe na Figura 6 e na Tabela 3, que houve apenas uma tendência com relação à memória verbal ($p < 0,10$). Em uma análise unicaudal, observa-se que essa tendência observada na memória verbal torna-se significativa ($p = 0,033$). Além disso, o tamanho do efeito da prematuridade na memória verbal foi considerado forte ($d = 0,81$; Tabela 3).

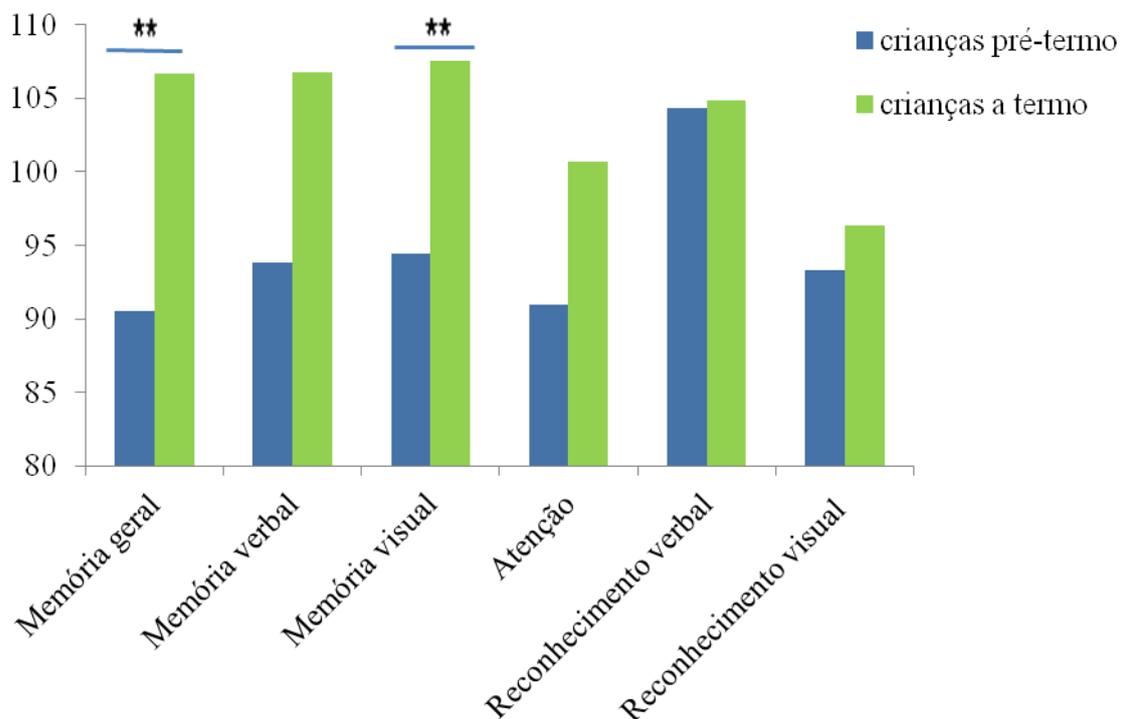


Figura 6. Perfil mnemônico de crianças pré-termo e a termo. O gráfico acima ilustra os índices gerais ponderados obtidos no WRAML2. $**p < 0,01$ entre crianças pré-termo e a termo.

Por outro lado, nenhuma diferença significativa foi constatada em atenção/concentração ($p = 0,21$), nem em memória de trabalho ($p = 0,18$; Figura 7).

Além disso, como ilustrado na Figura 7, observou-se o efeito da prematuridade na recuperação das informações armazenadas, mas não na habilidade de reconhecimento. No subteste Lista de Palavras (*Verbal Learning recall*) ($F_{(1/55)} = 5,27$; $p = 0,025$), as crianças pré-termo lembraram menos palavras de uma lista memorizada previamente (média = 6,9; EP = 0,4) do que àquelas a termo (média = 9,3; EP = 0,5) ($p = 0,005$). Em consonância, crianças pré-termo também tiveram mais dificuldades em lembrar os detalhes de duas estórias diferentes (subteste Estória, do inglês *Story Memory*). Por outro lado, elas não apresentaram dificuldades em reconhecer as palavras, nem estímulos visuais armazenados.

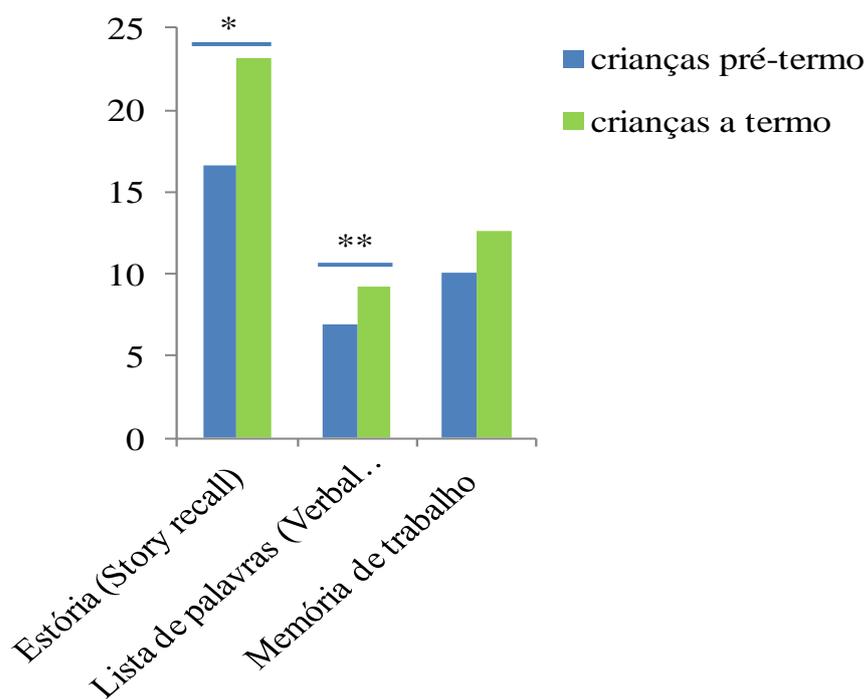


Figura 7. Desempenho nos subtestes WRAML2 que avaliam memória de trabalho e recuperação das informações armazenadas. Crianças pré-termo apresentaram mais dificuldades em recuperar as informações verbais (Story recall – detalhes de duas estórias; V. Learning recall – lista de palavras) armazenadas 30 minutos pré-teste. ** $p < 0,01$; $p < 0,05$ entre crianças pré-termo e a termo.

Tabela 3. Desempenho das crianças pré-termo e a termo nas escalas gerais e nos subtestes do *Wide Range Assessment of Memory and Learning* : média (M), desvio padrão (DP), erro padrão da média (EP), intervalo de confiança de 95% (IC 95%) e tamanho do efeito (*d*).

	Crianças pré-termo				Crianças a termo				<i>p</i>	<i>d</i>
	M	DP	EP	IC 95%	M	DP	EP	IC 95%		
Memória verbal	93,8	15,7	2,9	88,0 – 99,7	106,7	16,0	2,9	100,9 – 112,7	0,066	0,81
Story Memory	8,3	2,5	0,4	7,3 – 9,2	10,8	2,6	0,5	9,8 – 11,8	0,008	0,98
Verbal Learning	9,7	3,5	0,6	8,4 – 11,2	11,8	3,7	0,7	10,4 – 13,1	0,281	0,58
Memória visual	94,4	12,4	2,3	89,8 – 99,0	107,5	10,4	1,9	103,7 – 111,4	0,003	1,14
Picture Memory	9,1	2,6	0,5	8,1 – 10,1	10,9	1,9	0,3	10,2 – 11,6	0,007	0,79
Design Memory	9,0	3,0	0,5	7,9 – 10,1	11,6	2,6	0,5	10,6 – 12,6	0,060	0,93
Atenção	91,0	13,0	2,4	86,1 – 95,9	100,7	11,0	2,0	96,7 – 104,7	0,215	0,80
Finger Windows	9,4	2,7	0,5	8,4 – 10,4	11,3	2,8	0,5	10,3 – 12,3	0,106	0,69
Number Letter	7,6	2,3	0,4	6,7 – 8,4	9,0	2,2	0,4	8,2 – 9,8	0,925	0,62
Memória geral	90,5	14,3	2,6	85,2 – 95,9	106,6	12,1	2,2	102,2 – 111,1	0,006	1,21
Reconhecimento verbal	104,3	16,6	3,0	98,1 – 110,5	104,9	14,3	2,6	99,6 – 110,1	0,483	0,04
Story Memory	10,0	3,1	0,6	8,8 – 11,2	10,5	2,8	0,5	9,5 – 11,6	0,793	0,17
Verbal Learning	11,4	3,0	0,5	10,3 – 12,5	11,1	3,1	0,5	10,0 – 12,3	0,413	0,10
Reconhecimento visual	93,3	12,4	2,3	88,7 – 98,0	96,4	13,1	2,3	91,6 – 101,2	0,715	0,24
Picture Memory	8,4	2,6	0,5	7,5 – 9,4	8,2	2,6	0,5	7,3 – 9,2	0,315	0,08
Design Memory	9,6	2,4	0,4	8,7 – 10,5	10,7	2,8	0,5	9,7 – 11,7	0,664	0,42
Recuperação c/ atraso										
Story Memory ^a	16,7	7,5	1,4	13,9 – 19,5	23,1	9,6	1,7	19,6 – 26,7	0,043	0,75
Verbal Learning ^a	6,9	2,3	0,4	6,0 – 7,8	9,3	2,6	0,5	8,3 – 10,2	0,005	0,97
Memória de trabalho ^a	10,1	3,9	0,7	8,6 – 11,6	12,6	4,1	0,7	11,1 – 14,1	0,181	0,62

Os resultados foram expressos em escores ponderados (normas americanas). ^a Desempenhos em recuperação com atraso e memória de trabalho foram expressos em escores brutos.

5. Prematuridade e resposta fisiológica/emocional ao *Trier Social Stress Test for*

Children (TSST-C)

Considerando que o teste Mauchly's indicou uma violação da esfericidade ($\chi^2(5) = 96,89$; $p < 0,001$), utilizou-se *Greenhouse-Geiser* ($\epsilon = 0,47$) para corrigir os graus de liberdade.

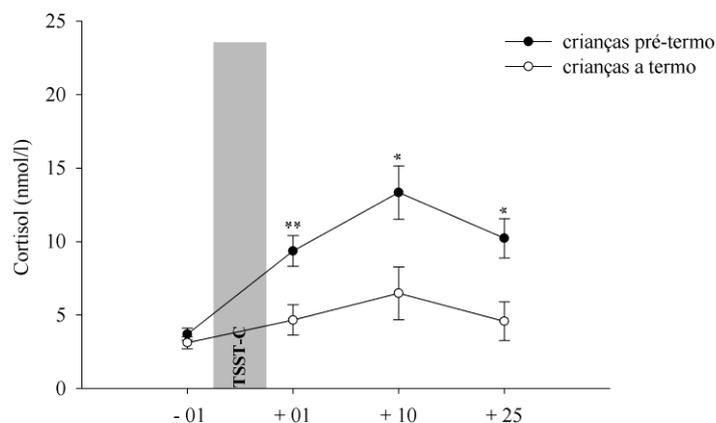
Variações nas concentrações de cortisol após exposição ao TSST-C foram observadas dentre participantes ($F_{(1,41/70,41)} = 3,59$; $p = 0,048$). Como esperado, o pico de cortisol foi

alcançado 10 min após o fim do estressor (vide 8A). ANCOVA mista 2 (prematuridade) x 2 (gênero) x 4 (tempo) também revelou um efeito principal da prematuridade ($F_{(1/50)} = 8,86$; $p = 0,004$), interação entre as variáveis prematuridade e tempo ($F_{(1,41/70,41)} = 3,73$; $p = 0,043$) e tendência de interação entre prematuridade, gênero e tempo ($F_{(1,41/70,41)} = 3,15$; $p = 0,066$). Conforme ilustrado na Figura 8A, crianças pré-termo apresentaram uma resposta neuroendócrina mais intensa ao TSST-C em comparação a crianças a termo: +01 ($p = 0,008$), +10 ($p = 0,018$), + 25 min ($p = 0,009$) após TSST-C. Nenhuma diferença entre os grupos foi observada na concentração de cortisol antes da exposição ao estressor ($p = 0,194$). O aumento de cortisol em resposta ao TSST-C ($\log \text{cortisol}_{+10} - \log \text{cortisol}_{-01}$) foi maior em meninas pré-termo do que em meninos pré-termo ($p = 0,03$; vide Figura 8B). Influências da escolaridade materna ($p = 0,46$) e paterna ($p = 0,97$) não foram observadas nas alterações de cortisol em resposta ao estressor. É importante ressaltar que duas crianças pré-termo e duas a termo foram excluídas das análises realizadas acima pelos seguintes motivos: não-comparecimento à sessão do TSST-C, abandono da sessão na fase de preparação ou quantidades de saliva insuficientes (10 min após TSST-C) para medição de cortisol. Diferentemente do cortisol, nenhum efeito da prematuridade ou interação entre as variáveis analisadas (prematuridade, sexo e tempo) foi observado na enzima sAA ($p > 0,05$).

Dentre as crianças pré-termo, não houve diferenças significativas nas concentrações de cortisol em resposta ao TSST-C entre aquelas que foram expostas prenatalmente a corticóides e as não-expostas ($p > 0,82$).

Reações emocionais em resposta ao TSST-C foram observadas em ambos os grupos (pré-termo e a termo). Os participantes sentiram desconforto ($F_{(1/51)} = 4,13$, $p = 0,047$) e ficaram ansiosos, e em estado de alerta durante o TSST-C ($F_{(1/51)} = 5,56$, $p = 0,022$). Entretanto, eles não sentiram-se dominados ($F_{(1/51)} = 5,56$, $p = 0,94$). Nenhuma diferença significativa foi observada entre crianças pré-termo e a termo nas dimensões avaliadas pela escala SAM.

A.



B.

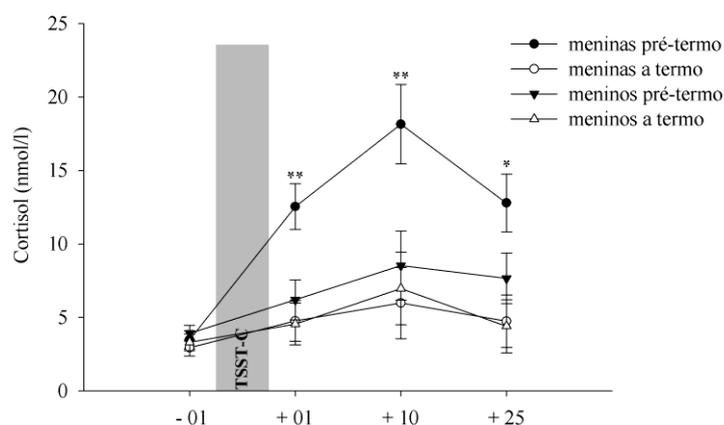


Figura 8. Variação de cortisol em resposta ao *Trier Social Stress Test for Children (TSST-C)* em crianças pré-termo e a termo (A) e em crianças pré-termo e a termo separadas por gênero (B). As análises estatísticas foram conduzidas usando o logaritmo dos dados ($\log +1$). As barras de erros representam o EP. Observou-se um significativo aumento de cortisol após o TSST-C e um efeito principal da prematuridade. Além disso, o aumento de cortisol em resposta ao TSST-C foi mais significativo em meninas pré-termo. (A) $**p < 0,01$, $*p < 0,05$ entre crianças pré-termo e a termo; (B) $**p < 0,01$, $*p < 0,05$ entre meninas pré-termo e a termo.

6. Relação entre estresse precoce, déficits de memória, e problemas emocionais

Elevados índices de estresse pré-natal foram associados a problemas emocionais na infância ($r = 0,30$; $p = 0,013$). Longo tempo de hospitalização foi associado a déficits mnemônicos (Memória Geral; $r = -0,39$; $p = 0,002$) e a problemas emocionais ($r = 0,35$; $p =$

0,005). Além disso, indivíduos com longo tempo de hospitalização após o nascimento apresentaram uma curva mais acentuada de cortisol em resposta ao TSST_C do que aquela apresentada por indivíduos com curto tempo de hospitalização. Dentro do grupo pré-termo, o aumento de cortisol foi mais significativo em crianças classificadas como PIG quando recém-nascidas.

A análise de regressão múltipla apontou que, além da prematuridade, peso ao nascimento foi uma variável extremamente relevante na explicação dos déficits de memória geral ($\Delta R^2 = 0,07$; $p = 0,028$; $\beta = 0,45$).

VII. Discussão

O objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos da prematuridade no funcionamento do eixo HHA e SNS, na memória e, no desenvolvimento comportamental e emocional em crianças. Constatou-se alterações no funcionamento do eixo HHA em crianças pré-termo, principalmente em meninas, quando comparadas a crianças a termo. O aumento de cortisol em resposta ao estressor foi maior em meninas pré-termo do que em meninos pré-termo. Além disso, crianças pré-termo apresentaram mais sintomas emocionais, déficits de memória visual e dificuldades em recuperar as informações verbais armazenadas quando comparadas às a termo. Contudo, nenhum déficit foi observado em habilidade de reconhecimento, atenção ou memória de trabalho. Em resumo, tais achados demonstram os efeitos a longo prazo da prematuridade e de suas consequências como a exposição precoce ao estresse, no funcionamento do eixo HHA, na memória e no desenvolvimento emocional.

1. Alterações no funcionamento do eixo HHA em crianças pré-termo

Comparadas ao grupo controle, as crianças pré-termo, especificamente as meninas, apresentaram altos níveis de cortisol ao acordar e em resposta ao TSST-C.

Os achados referentes às concentrações de cortisol ao acordar são consistentes com as observações de Buske-Kirschbaum et al. (2007) em crianças entre 8 e 14 anos de idade. Contudo, eles não encontraram diferenças significativas de cortisol em resposta ao TSST-C, nem diferenças entre os gêneros. Elevados níveis de cortisol ao acordar também foram observados em gestantes que tiveram filhos pré-termo (Entringer et al., 2011), sugerindo que as alterações no funcionamento do eixo HHA podem ter sua origem desde a gestação.

Quanto ao aumento de cortisol pelo TSST-C, nossos resultados espelham os achados em adultos (Wüst et al., 2005). O tamanho da amostra pode ser uma provável explicação para os contrastes entre os resultados do presente estudo e os de Buske-Kirschbaum et al. (2007). Enquanto o presente estudo avaliou 30 crianças pré-termo, Buske-Kirschbaum et al. (2007) avaliou apenas 18 crianças pré-termo.

Parte da alta-responsividade ao TSST-C pode ter sua origem no estresse pré-natal (Entringer, Kumsta, Hellhammer, Wadhwa, & Wust, 2009). O uso de corticóides durante a gestação é outra variável a ser considerada (Davis, Waffarn, & Sandman, 2011), apesar de não termos encontrado diferenças neuroendócrinas significativas em resposta ao TSST-C entre crianças pré-termo tratadas prenatalmente com glicocorticóides sintéticos e as não-tratadas.

Embora haja evidências de hiperfuncionamento do SNS em indivíduos pré-termo na fase adulta (Pyhälä et al., 2009), o presente estudo não encontrou significativas alterações do SNS na infância.

Em suma, crianças pré-termo, especialmente as meninas, são mais sensíveis a estressores, o que pode acarretar comprometimentos cognitivos e psicológicos ao longo da vida.

2. Crianças pré-termo são mais suscetíveis a problemas emocionais

Consistentes com prévios estudos (Delobel-Ayoub et al., 2009; de Jong et al., 2012), os resultados do SDQ revelaram que os participantes pré-termo apresentaram mais sintomas emocionais que os a termo. Isto pode ter sua origem em disfunções na amígdala ou no córtex pré-frontal provavelmente devido à exposição precoce de um ser imaturo ao estresse e seus hormônios (Hänsel & von Känel, 2008; Buss, Davis, Muftuler, Head, & Sandman, 2010; Buss et al., 2012). Em concordância com tal idéia, Zoratto, Fiore, Ali, Laviola, & Macri (2013) observaram déficits de dopamina e serotonina (córtex pré-frontal), bem como distúrbios emocionais em ratos adultos tratados com corticóides pós-natalmente e que apresentavam uma dieta deficiente em triptofano.

De acordo com a literatura, um dos principais distúrbios observados em indivíduos pré-termo é o Transtorno de Déficit de Atenção e Hiperatividade (TDAH) (Chu et al., 2012; de Kieviet, van Elburg, Lafeber, & Oosterlaan, 2012; Lindström, Lindblad, & Hjern, 2011). Contudo, tais achados não foram corroborados aqui. Isso, talvez, devido ao fato da amostra ser constituída principalmente por crianças classificadas como AIG. Fortalecendo este argumento, Heinonen et al. (2010) observou que o TDAH não foi associado à prematuridade, mas ao baixo peso em relação à idade gestacional (PIG).

3. Crianças pré-termo são mais suscetíveis a déficits de memória. Memória visual e recuperação de informações verbais são as principais funções afetadas

Em geral as crianças pré-termo apresentaram pior desempenho no WRAML2. Os principais déficits foram observados em memória visual e na recuperação das informações armazenadas, corroborando, respectivamente, com os achados de Baron, Litman, Ahronovich, e Baker (2012) e com os de Rose, Feldman, e Jankowski (2005). Por outro lado, a habilidade de reconhecimento mostrou-se preservada nestas crianças. Como explicar tais

achados: capacidade de recuperação das informações afetada vs. habilidade de reconhecimento preservada?

As dificuldades das crianças pré-termo em recuperar informações verbais previamente armazenadas podem estar associadas a alterações estruturais (atrofia) e/ou funcionais do hipocampo (de Quervain et al., 2003; McClelland, Korosi, Cope, Autumn, & Baram, 2011). Evidências sugerem que a função de reconhecimento é mais dependente do córtex perirrinal, enquanto recordação é dependente do hipocampo (McTighe, Cowell, Winters, Bussey, & Saksida, 2010; de Vanssay-Maigne et al., 2011). Com base em tais evidências e nos achados do presente estudo, especula-se que, na infância, o hipocampo é mais vulnerável ao estresse e seus hormônios do que o córtex perirrinal. Contudo estudos de neuroimagem poderiam esclarecer melhor a questão anterior, ou seja, capacidade de recuperação das informações afetada vs. habilidade de reconhecimento preservada.

Outra função que mostrou-se preservada em crianças pré-termo foi a memória de trabalho. Preservação da memória de trabalho e déficits na evocação dos dados de memória coincidem com os achados em crianças a termo expostas a uma situação estressante, o TSST-C (Quesada et al., 2012). Conjuntamente, esses dois estudos sugerem que, na infância, o hipocampo é uma estrutura mais vulnerável às adversidades e aos efeitos do estresse e seus hormônios do que o córtex pré-frontal. Diferenças no desenvolvimento dessas duas estruturas cerebrais podem explicar os divergentes efeitos do estresse, na infância, observados na memória de trabalho e na evocação de dados de memória. Diferentemente do hipocampo, a maturação do córtex pré-frontal atravessa a adolescência (Casey, Tottenham, Liston, & Durston, 2005; Perlman, Webster, Herman, Kleinman, & Weickert, 2007). Portanto, a sensibilidade de estruturas cerebrais ao estresse e às adversidades parece ser dependente do período do desenvolvimento no qual o indivíduo se encontra (Lupien, Maheu, Tu, Fiocco, & Schramek, 2009).

4. Hiper-reatividade do eixo HHA, problemas emocionais e déficits de memória em crianças pré-termo: consequências de longa duração do estresse precoce vivenciado por um cérebro imaturo?

Parte dos comprometimentos observados no presente estudo em crianças pré-termo podem ter sua origem desde a gestação. Embora exista uma barreira protegendo o feto de elevados níveis de cortisol materno, isto é, a enzima 11- β -hidroxiesteróide desidrogenase tipo 2 (11 β -HSD2), há indícios de que o estresse é capaz de inibir a atividade desta enzima (Kajantie et al., 2003; O'Donnell et al., 2012). Estudos têm mostrado que a inibição da atividade da 11 β -HSD2 pelo consumo de alcaçuz (*licorice*), planta rica em glicirrizina, aumenta o risco de partos prematuros (Strandberg, Andersson, Järvenpää, & McKeigue, 2002). Além disso, a ingestão de glicirrizina na gravidez está associada a um hiperfuncionamento do eixo HHA (Räikkönen et al., 2010), a déficits cognitivos e a problemas emocionais e de comportamento (Räikkönen et al., 2009) na infância, achados muito semelhantes aos observados no presente estudo. Em consonância, Sandman, Davis, Buss, e Glynn (2011) observaram redução do volume hipocampal, aumento da amígdala e hiper-reatividade do eixo HHA ao TSST-C em indivíduos expostos prenatalmente a elevados níveis de glicocorticóides. Corroborando com os referidos resultados, nós encontramos associações entre estresse pré-natal (potencial inibidor da atividade da 11 β -HSD2), prematuridade e problemas emocionais na infância.

Observou-se também uma associação entre longo tempo de hospitalização e hiper-reatividade do eixo HHA ao TSST-C, o que sugere que os cuidados neonatais também podem ser um risco para o funcionamento do eixo HHA. Tais achados corroboram os de Smith et al. (2011). Smith et al. (2011) observaram que alterações estruturais e funcionais em regiões do

lobo temporal foram associadas a uma significativa exposição a diferentes estressores durante a permanência na UTI Neonatal.

Apesar de nos últimos anos, altos níveis de cortisol terem sido associados a déficits de memória (Wolf et al., 2009, Quesada et al., 2012), cortisol na infância não foi um preditor, no presente estudo, para os comprometimentos mnemônicos e emocionais observados em crianças pré-termo. Análises de regressão múltipla revelaram que, além da prematuridade, baixo peso ao nascer foi considerado um preditor para os observados déficits em memória geral. Em um design de coorte histórica, peso ao nascer talvez seja uma variável mais fidedigna de estresse pré-natal do que os relatos maternos. Em consonância com tal argumento, alterações na metilação da placenta, comprometendo o funcionamento da enzima 11 β -HSD2 têm sido associado a baixo peso ao nascimento (Novakovic & Saffery, 2012). Além disso, este é um marcador que alia estresse pré-natal e pós-natal. Baseado nisso e nos achados de Sandman et al. (2011), pelo menos parte dos comprometimentos de memória podem ser atribuídos ao estresse pré-natal. Evidências sugerem que adversidades pré- e pós-natais são capazes de alterar a metilação do gene de receptores de glicocorticóides no hipocampo, e conseqüentemente a expressão gênica (Meaney, 2010), criando um fenótipo mais vulnerável ao estresse e mais suscetível a problemas de memória.

Contudo, estudos comparando o desempenho mnemônico de crianças pré-termo com mesma faixa de idade gestacional e diferentes pesos ao nascimento (PIG x AIG x GIG) são necessários para esclarecer o papel do baixo peso ao nascimento na memória. Além disso, estudos de follow-up na área da prematuridade, aliando análises de cortisol materno durante a gravidez (estresse pré-natal) e de cortisol do recém-nascido pré-termo durante a permanência na UTI (estresse pós-natal) a exames de neuroimagem (desenvolvimento cerebral), são essenciais para estabelecer as causas dos déficits mnemônicos e dos problemas emocionais observados em crianças pré-termo. Seriam tais prejuízos conseqüências do baixo

peso ao nascimento, de um comprometimento na relação mãe-bebê, da exposição de um ser imaturo ao estresse precoce, da imaturidade ou da combinação desses fatores?

5. Diferenças entre gêneros no aumento de cortisol em resposta ao TSST-C em crianças pré-termo: possíveis explicações.

Estudos animais e humanos têm mostrado que fêmeas expostas a altos níveis de glicocorticóides endógenos ou sintéticos são mais reativas ao estresse ao longo da vida do que os machos (de Bruijn et al., 2009; Alexander et al., 2012; Glover and Hill, 2012). De forma similar, observou-se, no presente estudo, que o aumento de cortisol em resposta ao TSST-C em crianças pré-termo foi maior em meninas do que em meninos. Essa diferença entre os gêneros parece ter sua origem na gestação. Evidências sugerem que a atividade da 11β -HSD2 é mais afetada em fêmeas do que em machos (Clifton, 2005), sendo um possível mecanismo para explicar a hiper-reatividade do eixo HHA ao TSST-C em meninas pré-termo. Contudo, socialização e aprendizagem social são outras possíveis explicações e, portanto, devem ser consideradas (Dedovic, Wadiwalla, Engert, & Pruessner, 2009).

Apesar das diferenças de gênero no funcionamento do eixo HHA, meninos e meninas pré-termo não diferiram significativamente no desempenho na bateria de testes WRAML2, nem em problemas emocionais.

6. Limitações do estudo

Em resumo, o presente estudo demonstrou que indivíduos pré-termo são um fenótipo mais vulnerável, sendo mais reativos a estressores, e mais suscetíveis ao desenvolvimento de déficits cognitivos e problemas emocionais na infância. Contudo, algumas limitações deste estudo precisam ser consideradas.

Primeiramente, os grupos pré-termo e a termo não foram homogêneos quanto à escolaridade do pai e da mãe. A dificuldade de se obter grupos de crianças pré-termo e a termo homogêneos quanto a esse aspecto pode ser devido a um possível efeito da escolaridade materna e paterna sobre a própria prematuridade (Blumenshine, Egerter, Libet, & Braveman, 2010). Apesar de termos avaliado tais fatores como co-variáveis e não ter sido apontado nenhum efeito significativo destas nos comprometimentos observados em crianças pré-termo, seria interessante replicar esse estudo com grupos mais homogêneos quanto às variáveis citadas.

Segundo, o índice de estresse pré-natal foi baseado no relato das mães dos participantes. Considerando a faixa etária avaliada, parte dessas informações podem ter sido esquecidas.

Terceiro, a integridade do hipocampo não foi avaliada por exames de neuroimagem.

Quarto, o tamanho reduzido da amostra aliado a natureza do estudo (estudo de coorte histórica) não permitem avaliar separadamente a influência das várias variáveis pré-natais e pós-natais nos prejuízos observados em participantes pré-termo. Encontramos algumas associações importantes entre longo tempo de hospitalização, déficits memmônicos e problemas emocionais, bem como entre estresse pré-natal e problemas emocionais. Verificamos, também, uma associação entre longo tempo de hospitalização e elevadas concentrações de cortisol em resposta ao TSST-C. Baixo peso ao nascimento foi também associado a déficits de memória geral. Contudo, é preciso ter em mente que muitas dessas variáveis se sobrepõem ou se confundem, dificultando as análises do efeito de cada um separadamente. O peso ao nascimento, por exemplo, é uma medida de nutrição materna durante a gestação, de problemas na placenta, de estresse pré-natal, de prematuridade e também de estresse pós-natal. Em teoria, quanto menor o peso ao nascimento, mais tempo de hospitalização. Tendo isso em vista, os comprometimentos observados, no presente estudo, em crianças pré-termo podem ser consequências do estresse pré-natal, pós-natal, do baixo

peso ao nascimento, de uma deficiência na interação mãe bebê ocasionada pelo medo materno em lidar com um ser tão frágil, da própria exposição crônica ao cortisol, ou da própria imaturidade. Essas variáveis podem também agir sinergicamente, afetando o desenvolvimento cerebral. Em resumo, o design do presente estudo bem como o tamanho reduzido da amostra não permitem determinar qual a participação de cada variável associada à prematuridade nos comprometimentos observados na infância. Podemos falar apenas de forma geral e de associações, as quais poderiam ser melhor estabelecidas em uma amostra maior.

Baseado nisso, estudos futuros de follow-up englobando análises neuroendócrinas desde a gestação e exames de neuroimagem são necessários para verificar as principais causas dos comprometimentos neuroendócrinos, cognitivos e emocionais observados em crianças pré-termo.

VIII. Conclusão

Intensa sensibilidade ao estresse, déficits em memória visual e na evocação de dados de memória bem como problemas emocionais foram os principais prejuízos observados em crianças prematuras. Tais comprometimentos podem ser resultados da exposição precoce de um ser imaturo ao estresse. Entretanto, há ainda muito a aprender sobre como o estresse pré- e pós-natal vinculados à prematuridade modelam a fisiologia, comportamento, emoção e cognição dos indivíduos na infância e quais seriam os mecanismos envolvidos nessa modelagem.

Em resumo, o presente estudo demonstrou que crianças pré-termo são um fenótipo mais vulnerável, estando, portanto mais suscetíveis ao desenvolvimento de psicopatologias e déficits cognitivos. Tal conhecimento ressalta a importância de follow-up dessas crianças e o desenvolvimento de novas medidas de intervenção sobre esse quadro clínico. Como proposto

por Moore et al. (in press) é preciso buscar um novo caminho para entender as complicações da prematuridade.

IX. Perspectivas

Baseado nos efeitos negativos da prematuridade na infância, torna-se essencial a compreensão dos mecanismos subjacentes à construção desse fenótipo mais vulnerável. A partir de tal conhecimento parte dos comprometimentos observados em crianças pré-termo podem ser prevenidos ou amenizados.

Uma disfunção na enzima 11β -HSD2, expondo o feto a elevados níveis de cortisol materno, pode ser um provável mecanismo para explicar as negativas consequências observadas em crianças pré-termo. Como citado anteriormente no item 4 da seção VII, o consumo de alcaçuz (licorice) durante a gravidez, rico em glicirrizina, uma substância que afeta a atividade da enzima 11β -HSD2, está não apenas relacionado ao aumento do risco de prematuridade (Strandberg et al., 2002), mas também a déficits cognitivos, distúrbios afetivos (Räikkönen et al, 2009) e hiperatividade do eixo HPA (Räikkönen et al., 2010) na prole. Tais resultados são bastante semelhantes aos encontrados, no presente estudo, em crianças pré-termo, sugerindo a importância de se investigar a relação entre estresse pré-natal, atividade da enzima 11β -HSD2 e prematuridade. Uma redução da atividade da enzima 11β -HSD2 também está associada ao baixo peso ao nascimento, característica da prematuridade, e a um severo estresse fetal (Kajantie et al., 2003).

Os efeitos a longo prazo da prematuridade podem ser consequências de mecanismos epigenéticos. Eventos adversos durante os períodos pré-natal e/ou pós-natal podem afetar a metilação do gene de receptores de glicocorticóides, e conseqüentemente a expressão gênica (Meaney, 2010). Um interessante estudo, observou que crianças e adolescentes com idade entre 10 e 19 anos nascidos de mães que experienciaram estresse, na forma de violência

conjugal, durante a gestação apresentaram elevados níveis de metilação nos genes de receptores de glucocorticoides (Radtke et al., 2011). Baseado nessas evidências, é fundamental avaliar se crianças pré-termo também apresentam alterações na metilação dos genes de receptores de glucocorticóides.

Em suma, é fundamental enxergar a prematuridade não apenas como o nascimento de um ser imaturo, mas um ser imaturo exposto a eventos adversos. É de extrema importância ir além da simples concepção de imaturidade do organismo. A partir daí os profissionais de saúde poderão ter mais ferramentas para propor intervenções mais direcionadas e eficazes. A redução dos níveis de estresse pré-natal poderia, por exemplo, reduzir os índices de prematuridade? Massagem durante a gestação tem mostrado ser uma efetiva técnica para redução dos índices de nascimento pré-termo, baixo peso ao nascimento e depressão pós-parto (Field, Diego, Hernandez-Reif, Deeds, & Figueiredo, 2009).

Portanto, ter uma visão mais abrangente da prematuridade, incluindo a exposição precoce de um ser imaturo ao estresse, pode contribuir para o adequado desenvolvimento desses indivíduos. Pode ser um caminho para prevenir vários distúrbios psicológicos e cognitivos ao longo da vida.

Referências Bibliográficas

- Achenbach, T.M. (1991). *Manual for the Child Behavior Checklist / 4-18 and 199 profile*. Burlington: University of Vermont, Department of Psychiatry.
- Alexander, N., Rosenlöcher, F., Stalder, T., Linke, J., Distler, W., Morgner, J., & Kirschbaum, C. (2012). Impact of antenatal synthetic glucocorticoid exposure on endocrine stress reactivity in term-born children. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 97, 3538 – 3544.
- Baddeley, A. (1992). Working memory. *Science*, 255, 556-559.
- Baron, I.S, Erickson, K., Ahronovich, M.D., Baker, R., & Litman, F.R. (2011). Cognitive deficit in preschoolers born late-preterm. *Early Human Development*, 87, 115-119.
- Baron, I.S., Litman, F.R., Ahronovich, M.D., & Baker, R. (2012). Late preterm birth: a review of medical and neuropsychological childhood outcomes. *Neuropsychology Review*, 22, 438-450.
- Beck, S., Wojdyla, D., Say L., Betran, A.P., Merialdi, M., Requejo, J.H., Rubens, C., Menon, R., & Van Look, P.F. (2010). The worldwide incidence of preterm birth: a systematic review of maternal mortality and morbidity. *Bulletin of the World Health Organization*, 88, 31-38.
- Bhutta, A.T., Cleves, M.A., Casey, P.H., Cradock, M.M., & Anand, K.J. (2002). Cognitive and behavioral outcomes of school-aged children who were born preterm: a meta-analysis. *Journal of the American Medical Association*, 288, 728-737.
- Blencowe, H., Cousens, S., Oestergaard, M., Chou, D., Moller, A-B., Narwal, R., Adler, A., Garcia, C.V., Rohde, S., Say, L., & Lawn, J.E. (2012). National, regional, and worldwide estimates of preterm birth rates in the year 2010 with time trends since 1990 for selected countries: a systematic analysis and implications. *Lancet*, 379, 2162-2172.

- Blumenshine, P.M., Egerter, S.A., Libet, M.L., Braveman, P.A. (2011). Father's education: an independent marker of risk for preterm birth. *Maternal and Child Health Journal*, 15, 60-67.
- Bradley, M.M., & Lang, P.J. (1994). Measuring emotion: the Self-assessment Manikin and the semantic differential. *Journal of Behavior Therapy and Experimental Psychiatry*, 25, 49-59.
- Buckert, M., Kudielka, B.M., Reuter, M., & Fiebach, C.J. (2012). The COMT Val158Met polymorphism modulates working memory performance under acute stress. *Psychoneuroendocrinology*, 37, 1810-1821.
- Buske-Kirschbaum, A., Jobst, S., Wustmans A., Kirschbaum, C., Rauh, W., & Hellhammer, D. (1997). Attenuated free cortisol response to psychosocial stress in children with atopic dermatitis. *Psychosomatic Medicine*, 59, 419-426.
- Buske-Kirschbaum, A., Krieger, S., Wilkes, C., Rauh, W., Weiss, S., & Hellhammer, D.H. (2007). Hypothalamic-pituitary-adrenal axis function and the cellular immune response in former preterm children. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 92, 3429-3435.
- Buss, C., Davis, E.P., Muftuler, L.T., Head, K., & Sandman, C.A. (2010). High pregnancy anxiety during mid-gestation is associated with decreased gray matter density in 6-9-year-old children. *Psychoneuroendocrinology*, 35, 141-153.
- Buss, C., Davis, E.P., Shahbaba, B., Pruessner, J.C., Head, K., & Sandman, C.A. (2012). Maternal cortisol over the course of pregnancy and subsequent child amygdala and hippocampus volumes and affective problems. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 109, 1312-1319.
- Casey, B.J., Tottenham, N., Liston, C., & Durston, S. (2005). Imaging the developing brain: what have we learned about cognitive development. *Trends in Cognitive Sciences*, 9, 104-

- Chu, S.M., Tsai, M.H., Hwang, F.M., Hsu, J.F., Huang, H.R., & Huang, Y.S. (2012). The relationship between attention deficit hyperactivity disorder and premature infants in Taiwanese: a case control study. *BMC Psychiatry, 12*, 85.
- Class, Q.A., Lichtenstein, P., Langström, N., & D'Onofrio, B.M. (2011). Timing of prenatal maternal exposure to severe life events and adverse pregnancy outcomes: a population study of 2.6 million pregnancies. *Psychosomatic Medicine, 73*, 234-241.
- Clifton, V.L. (2005). Sexually dimorphic effects of maternal asthma during pregnancy on placental glucocorticoid metabolism and fetal growth. *Cell and Tissue Research, 322*, 63-71.
- Cornelisse, S., van Stegeren, A.H., & Joels, M. (2011). Implications of psychosocial stress on memory formation in a typical male versus female student sample. *Psychoneuroendocrinology, 36*, 569-578.
- Coussons-Read, M.E., Lobel, M., Carey, J.C., Kreither, M.O., D'Anna, K., Argys, L., Ross, R.G., Brandt, C., & Cole, S. (2012). The occurrence of preterm delivery is linked to pregnancy-specific distress and elevated inflammatory markers across gestation. *Brain, Behavior and Immunity, 26*, 650-659.
- Davis, E.P., Waffarn, F., & Sandman, C.A. (2011). Prenatal treatment with glucocorticoids sensitizes the hpa axis response to stress among full-term infants. *Developmental Psychobiology, 53*, 175-83.
- de Bruijn, A.T., van Bakel, H.J., Wijnen, H., Pop, V.J., & van Baar, A.L. (2009). Prenatal maternal emotional complaints are associated with cortisol responses in toddler and preschool aged girls. *Developmental Psychobiology, 51*, 553-563.
- de Jong, M., Verhoeven, M., & van Baar, A.L. (2012). School outcome, cognitive functioning, and behaviour problems in moderate and late preterm children and adults: a

- review. *Seminars in Fetal & Neonatal Medicine*, 17, 163-169.
- de Kieviet, J.F., van Elburg, R.M., Lafeber, H.N., & Oosterlaan, J. (2012). Attention problems of very preterm children compared with age-matched term controls at school-age. *Journal of Pediatrics*, 161, 824-829.
- de Kloet, E.R. (2003). Hormones, brain and stress. *Endocrine Regulations*, 37, 51-68.
- de Kloet, E.R., Joëls, M., & Holsboer, F. (2005). Stress and the brain: from adaptation to disease. *Nature Reviews Neuroscience*, 6, 463-475.
- de Quervain, D.J.F., Henke, K., Aerni, A., Treyer, V., McGaugh, J.L., Berthold, T., Nitsch, R.M., Buck, A., Roozendaal, B., & Hock, C. (2003). Glucocorticoid-induced impairment of declarative memory retrieval is associated with reduced blood flow in the medial temporal lobe. *European Journal of Neuroscience*, 17, 1296-1302.
- de Vanssay-Maigne, A., Noulhiane, M., Devauchelle, A.D., Rodrigo, S., Baudoin-Chial, S., Meder, J.F., Oppenheim, C., Chiron, C., & Chassoux F. (2011). Modulation of encoding and retrieval by recollection and familiarity: mapping the medial temporal lobe networks. *Neuroimage*, 58, 1131-1138.
- Dedovic, K., Wadiwalla, M., Engert, V., & Pruessner, J.C. (2009). The role of sex and gender socialization in stress reactivity. *Developmental Psychology*, 45, 45-55.
- Delobel-Ayoub, M., Arnaud, C., White-Koning, M., Casper, C., Pierrat, V., Garel, M., Burguet, A., Roze, J.C., Matis, J., Picaud, J.C., Kaminski, M., Larroque, B., & EPIPAGE Study Group (2009). Behavioral problems and cognitive performance at 5 years of age after very preterm birth: the EPIPAGE Study. *Pediatrics*, 123, 1485-1492.
- Duncko, R., Johnson, L., Merikangas, K., & Grillon, C. (2009). Working memory performance after acute exposure to the cold pressor stress in healthy volunteers. *Neurobiology of Learning & Memory*, 91, 377-381.
- Entringer, S., Buss, C., Andersen, J., Chicz-DeMet, A., & Wadhwa, P.D. (2011). Ecological

momentary assessment of maternal cortisol profiles over a multiple-day period predicts the length of human gestation. *Psychosomatic Medicine*, 73, 469-474.

Entringer, S., Kumsta, R., Hellhammer, D.H., Wadhwa, P., & Wüst, S. (2009). Prenatal exposure to maternal psychosocial stress and HPA axis regulation in young adults. *Hormones and Behavior*, 55, 292-298.

Escobar, G.J., Clark, R.H., & Greene, J.D. (2006). Short-term outcomes of infants born at 35 and 36 weeks gestation: we need to ask more questions. *Seminars in Perinatology*, 30, 28-33.

Field, T., Diego, M., Hernandez-Reif, M., Deeds, O., & Figueiredo, B. (2009). Pregnancy massage reduces prematurity, low birthweight and postpartum depression. *Infant Behavior & Development*, 32, 454-460.

Flacking, R., Ewald, U., & Starrin, B. (2007). "I wanted to do a good job": experiences of 'becoming a mother' and breastfeeding in mothers of very preterm infants after discharge from a neonatal unit. *Social Science & Medicine*, 64, 2405-2416.

Forcada-Guex, M., Borghini, A., Pierrehumbert, B., Asermet, F., & Muller-Nix, C. (2011). Prematurity, maternal posttraumatic stress and consequences on the mother-infant relationship. *Early Human Development*, 87, 21-26.

Galéra, C., Côté, S.M., Bouvard, M.P., Pingault, J.B., Melchior, M., Michel, G., Boivin, M., & Tremblay, R.E. (2011). Early risk factors for hyperactivity-impulsivity and inattention trajectories from age 17 months to 8 years. *Archives of General Psychiatry*, 68, 1267-1275.

Glover, V., & Hill, J. (2012). Sex differences in the programming effects of prenatal stress on psychopathology and stress responses: an evolutionary perspective. *Physiology & Behavior*, 106, 736-740.

Glover, V., O'Connor, T. G., & O'Donnell, K. (2010). Prenatal stress and the programming

- of the HPA axis. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 35, 17-22.
- Goldenberg, R.L., Culhane, J.F., Iams, J.D., & Romero, R. (2008). Epidemiology and causes of preterm birth. *Lancet*, 371, 75-84.
- Goodman, R. (1997). The Strengths and Difficulties Questionnaire: a research note. *Journal of Child Psychology and Psychiatry* 38, 581-586.
- Goodman, R., & Scott S. (1999). Comparing the Strengths and Difficulties Questionnaire and the Child Behavior Checklist: Is small beautiful? *Journal of Abnormal Child Psychology*, 27, 17-24.
- Grunau, R.E., Haley, D.W., Whitfield, M.F., Weinberg, J., Yu, W., & Thiessen, P. (2007). Altered basal cortisol levels at 3, 6, 8 and 18 months in infants born at extremely low gestational age. *Journal of Pediatrics*, 150, 151-156.
- Grunau, R.E., Holsti, L., & Peters, J.W. (2006). Long-term consequences of pain in human neonates. *Seminars in Fetal & Neonatal Medicine*, 11, 268-275.
- Grunau, R.E., Weinberg, J., & Whitfield, M.F. (2004). Neonatal procedural pain and preterm infant cortisol response to novelty at 8 months. *Pediatrics*, 114, 77-84.
- Grunau, R.E., Whitfield, M.F., Petrie-Thomas, J., Synnes, A.R., Cepeda, I.L., Keidar, A., Rogers, M., Mackay, M., Hubber-Richard, P., & Johannesen, D. (2009). Neonatal pain, parenting stress and interaction, in relation to cognitive and motor development at 8 and 18 months in preterm infants. *Pain*, 143, 138-146.
- Gunnar, M.R., Talge, N.M., & Herrera, A. (2009). Stressor paradigms in developmental studies: what does and does not work to produce mean increase in salivary cortisol? *Psychoneuroendocrinology*, 34, 953-967.
- Haley, D.W., Grunau, R.E., Oberlander, T.F., & Weinberg, J. (2008). Contingency learning and reactivity in preterm and full-term infants at 3 months. *Infancy*, 13, 570-595.
- Hänsel, A., & von Känel, R. (2008). The ventro-medial prefrontal cortex: a major link

between the autonomic nervous system, regulation of emotion, and stress reactivity?

Biopsychosocial Medicine, 2, 21.

Heinonen, K., Räikkönen, K., Pesonen, A.K., Andersson, S., Kajantie, E., Eriksson, J.G., Wolke, D., & Lano, A. (2010). Behavioural symptoms of attention deficit/hyperactivity disorder in preterm and term children born small and appropriate for gestational age: a longitudinal study. *BMC Pediatrics*, 10: 91.

Het, S., Ramlow, G., & Wolf, O.T. (2005). A meta-analytic review of the effects of acute cortisol administration on human memory. *Psychoneuroendocrinology*, 30, 771-784.

Jubenville, J., Neburn-Cook, C., Hegadoren, K., & Lacaze-Masmonteil, T. (2012). Symptoms of acute stress disorder in mothers of premature infants. *Advances in Neonatal Care*, 12, 246-253.

Kajantie, E., Dunkel, L., Turpeinen, U., Stenman, U.H., Wood, P.J., Nuutila, M., & Andersson, S. (2003). Placental 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase-2 and fetal cortisol/cortisone shuttle in small preterm infants. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 88, 493-500.

Kapoor, A., Dunn, E., Kostaki, A., Andrews, M.H., & Matthews, S.G. (2006). Fetal programming of hypothalamo-pituitary-adrenal function: prenatal stress and glucocorticoids. *Journal of Physiology*, 572, 31-44.

Kirschbaum, C., & Hellhammer, D.H. (1994). Salivary cortisol in psychoneuroendocrine research: Recent developments and applications. *Psychoneuroendocrinology*, 19, 313-333.

Kirschbaum, C., Pirke, K.M., & Hellhammer, D.H. (1993). The 'Trier Social Stress Test'- a tool for investigating psychobiological stress responses in a laboratory setting. *Neuropsychobiology*, 28, 76-81.

Koolhaas, J.M., Bartolomucci, A., Buwalda, B., de Boer, S.F., Flügge, G., Korte, S.M.,

- Meerlo, P., Murison, R., Olivier, B., Palanza, P., Richter-Levin, G., Sgoifo, A., Steimer, T., Stiedl, O., van Dijk, G., Wöhr, M., & Fuchs, E. (2011). Stress revisited: a critical evaluation of the stress concept. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 35, 1291-1301.
- Korja, R., Latva, R., & Lehtonen, L. (2012). The effects of preterm birth on mother-infant interaction and attachment during the infant's first two years. *Acta Obstetricia Gynecologica Scandinavica*, 91, 164-173.
- Kuhlmann, S., Piel, M., & Wolf, O.T. (2005). Impaired memory retrieval after psychosocial stress in healthy young men. *Journal of Neuroscience*, 25, 2977-2982.
- Latendresse, G., & Ruiz, R.J. (2011). Maternal corticotropin-releasing hormone and the use of selective serotonin reuptake inhibitors independently predict the occurrence of preterm birth. *Journal of Midwifery & Women's Health*, 56, 118-126.
- Lau, Y. (2103). The effect of maternal stress and health-related quality of life on birth outcomes among macao chinese pregnant women. *Journal of Perinatal & Neonatal Nursing*, 27, 14-24.
- Lindström, K., Lindblad, F., & Hjern, A. (2011). Preterm birth and attention-deficit/hyperactivity disorder in schoolchildren. *Pediatrics*, 127, 858 -865.
- Lundequist, A., Böhm, B., & Smedler, A.C. (in press). Individual neuropsychological profiles at age 5½ years in children born preterm in relation to medical risk factors. *Child Neuropsychology*.
- Lupien, S.J, Maheu, F., Tu, M., Fiocco, A., & Schramek, T.E. (2007). The effects of stress and stress hormones on human cognition: Implications for the field of brain and cognition. *Brain and Cognition*, 65, 209-237.
- Lupien, S.J., McEwen, B.S., Gunnar, M.R., & Heim, C. (2009). Effects of stress throughout the lifespan on the brain, behaviour and cognition. *Nature Reviews Neuroscience*, 10,

434-445.

- Lupien, S. J., Ouelle-Morin, I., Hupback, A., Walker, D., Tu, M. T., & Buss, C. (2006). Beyond the stress concept: Allostatic load - a developmental biological and cognitive perspective. In: D. Cicchetti (Ed.), *Handbook series on developmental psychopathology* (pp. 784–809), Wisconsin.
- Luu, T.M., Ment, L., Allan, W., Schneider, K., & Vohr, B.R. (2011). Executive and memory function in adolescents born very preterm. *Pediatrics*, *127*, 639-646.
- McClelland, S., Korosi, A., Cope, J., Autumn, I., & Baram, T.Z. (2011). Emerging roles of epigenetic mechanisms in the enduring effects of early-life stress and experience on learning and memory. *Neurobiology of Learning and Memory*, *96*, 79-88.
- McElrath, T.F., Hecht, J. L., Dammann, O., Boggess, K., Onderdonk, A., Markenson, G., Harper, M., Delpapa, E., Allred, E.N., Leviton, A., & ELGAN Study Investigators (2008). Pregnancy disorders that lead to delivery before the 28th week of gestation: an epidemiologic approach to classification. *American Journal of Epidemiology*, *168*, 980 - 989.
- McManus, B.M., & Poehlmann, J. (2012). Parent-child interaction, maternal depressive symptoms and preterm infant cognitive function. *Infant Behavior & Development*, *35*, 489-498.
- McTighe, S.M., Cowell, R.A., Winters, B.D., Bussey, T.J., & Saksida, L.M. (2010). Paradoxical false memory for objects after brain damage. *Science*, *330*, 1408-1410.
- Meaney, M.J. (2010). Epigenetics and the biological definition of gene x environment interactions. *Child Development*, *81*, 41-79.
- Moore, T.A., Berger, A.M., Wilson, M.E. (in press). A new way of thinking about complications of prematurity. *Biological Research for Nursing*.
- Newnham, C.A., Inder, T.E., & Milgrom, J. (2009). Measuring preterm cumulative stressors

- within the NICU: the Neonatal Infant Stressor Scale. *Early Human Development*, 85, 549-555.
- Ni, T.L., Huang, C.C., & Guo, N.W. (2011). Executive function deficit in preschool children born very low birth weight with normal early development. *Early Human Development*, 87, 137-141.
- Nosarti, C., Reichenberg, A., Murray, R.M., Cnattingius, S., Lambe, M.P., Yin, L., MacCabe, J., Rifkin, L., & Hultman, C.M. (2012). Preterm birth and psychiatric disorders in young adult life. *Archives of General Psychiatry*, 69, 1-8.
- Novakovic, B., & Saffery, R. (2012). The ever growing complexity of placental epigenetics – Role in adverse pregnancy outcomes and fetal programming. *Placenta*, 33, 959-970.
- O'Donnell, K.J., Bugge Jensen, B., Freeman, L., Khalife, N., O'Connor, T.G., & Glover, V. (2012). Maternal prenatal anxiety and downregulation of placental 11beta-HSD2. *Psychoneuroendocrinology*, 37, 818-826.
- Okuda, S., Roozendaal, B., & McGaugh, J.L. (2004). Glucocorticoid effects on object recognition memory require training-associated emotional arousal. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101, 853-858.
- Olivieri, I., Bova, S.M., Urgesi, C., Ariaudo, G., Perotto, E., Fazzi, E., Stronati, M., Fabbro, F., Balottin, U., & Orcesi, S. (2012). Outcome of extremely low birth weight infants: what's new in the third millennium? Neuropsychological profiles at four years. *Early Human Development*, 88, 241-250.
- Perlman, W.R., Webster, M.J., Herman, M.M., Kleinman, J.E., & Weickert, C.S. (2007). Age-related differences in glucocorticoids receptor mRNA levels in the human brain. *Neurobiology of Aging*, 28, 447-458.
- Phillips, D.I., Walker, B.R., Reynolds, R.M., Flanagan, D.E., Wood, P.J., Osmond, C., Barker, D.J., & Whorwood, C.B. (2000). Low birth weight predicts elevated plasma

- cortisol concentrations in adults from 3 populations. *Hypertension*, 35, 1301-1306.
- Pimenta, E., Wolley, M., & Stowasser, M. (2012). Adverse cardiovascular outcomes of corticosteroid excess. *Endocrinology*, 153, 5137- 5142.
- Potharst, E.S., Schuengel, C., Last, B.F., van Wassenaer, A.G., & Houtzager, B.A. (2012). Difference in mother-child interaction between preterm- and term-born preschoolers with and without disabilities. *Acta Paediatrica*, 101, 597-603.
- Potijk, M., de Winter A.F., Bos, A. F., Kerstjens, J.M., & Reijneveld, S.A. (2012). Higher rates of behavioural and emotional problems at preschool age in children born moderately preterm. *Archives of Disease in Childhood*, 97, 112 – 117.
- Pyhälä, R., Räikkönen, K., Feldt, K., Andersson, S., Hovi, P., Eriksson, J.G., Järvenpää, A-L., & Kajantie, E. (2009). Blood pressure responses to psychosocial stress in young adults with very low birth weight: Helsinki study of very low birth weight adults. *Pediatrics*, 123, 731-734.
- Quas, J.A., Bauer, A., & Boyce, W.T. (2004). Physiological reactivity, social support, and memory in early childhood. *Child Development*, 75, 797-814.
- Quas, J.A., Yim, I.S., Edelsein, R.S., Cahill, L., & Rush, E.B. (2011). The role of cortisol reactivity in children's and adults' memory of a prior stressful experience. *Child Development*, 53, 166-74.
- Quas, J.A., Yim, I.S., Rush, E., & Sumaroka, M. (2012). Hypothalamic pituitary adrenal axis and sympathetic activation: joint predictors of memory in children, adolescents, and adults. *Biological Psychology*, 89, 335-341.
- Quesada, A.A., Wiemers, U.S., Schoofs, D., & Wolf, O.T. (2012). Psychosocial stress exposure impairs memory retrieval in children. *Psychoneuroendocrinology*, 37, 125-136.
- Radtke, K.M., Ruf, M., Gunter, H.M., Dohrmann, K., Schauer, M., Meyer, A., Elbert, T. (2011). Transgenerational impact of intimate partner violence on methylation in the

promoter of the glucocorticoid receptor. *Translational Psychiatry*, 19, 1:e21.

- Räikkönen, K., Pesonen, A.K., Heinonen, K., Lahti, J., Komsu, N., Eriksson, J.G., Seckl, J.R., Järvenpää, A.L., & Strandberg, T.E. (2009). Maternal licorice consumption and detrimental cognitive and psychiatric outcomes in children. *American Journal of Epidemiology*, 170, 1137-1146.
- Räikkönen, K., Seckl, J.R., Heinonen, K., Pyhälä, R., Feldt, K., Jones, A., Pesonen, A.K., Phillips, D.I., Lahti, J., Järvenpää, A.L., Eriksson, J.G., Matthews, K.A., Strandberg, T.E., & Kajantie, E. (2010). Maternal prenatal licorice consumption alters hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis function in children. *Psychoneuroendocrinology*, 35, 1587-1593.
- Resmini, E., Santos, A., Gómez-Anson, B., Vives, Y., Pires P., Crespo I., Portella, M.J., de Juan-Delago, M., Barahona, M.J., & Webb, S.M. (2012). Verbal and visual memory performance and hippocampal volumes, measured by 3-Tesla magnetic resonance imaging, in patients with Cushing's syndrome. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 97, 663-671.
- Rohleder, N., & Nater, U. (2009). Determinants of salivary alpha-amylase in humans and methodological considerations. *Psychoneuroendocrinology*, 34, 469-485.
- Rose, S.A., Feldman, J.F., & Jankowski, J.J. (2005). Recall memory in the first three years of life: a longitudinal study of preterm and term children. *Developmental Medicine and Child Neurology*, 47, 653-659.
- Roosendaal, B., McEwen, B.S., & Chattarji, S. (2009). Stress, memory and the amygdala. *Nature Reviews Neuroscience*, 10, 423-433.
- Roosendaal, B., Okuda, S., de Quervain, D.J., & McGaugh, J.L. (2006). Glucocorticoids interact with emotion-induced noradrenergic activation influencing in different memory functions. *Neuroscience*, 138, 901-910.

- Saigal, S., & Doyle, L.W. (2008). An overview of mortality and sequelae of preterm birth from infancy to adulthood. *Lancet*, *371*, 261 – 269.
- Sandman C.A., Davis, E.P., Buss, C., & Glynn, L.M. (2011). Prenatal programming of human neurological function. *International Journal of Peptides*, 1-9.
- Sansavini, A., Guarini, A., Alessandroni, R., Faldella, G., Giovanelli, G., & Salvioli, G. (2007). Are early grammatical and phonological working memory abilities affected by preterm birth? *Journal of Communication Disorders*, *40*, 239-256.
- Sapolsky, R.M. (2000). Stress hormones: good and bad. *Neurobiology of Disease*, *7*, 540-542.
- Schoofs, D., Preuß, D., & Wolf, O.T. (2008). Psychosocial stress induces working memory impairments in an n-back paradigm. *Psychoneuroendocrinology*, *33*, 643-653.
- Selye, H. (1975). Confusion and controversy in the stress field. *Journal of Human Stress*, *1*, 37-44.
- Sheslow, D., & Adams, W. (2003). *Wide Range Assessment of Memory and Learning – Second Edition: Administration and Technical Manual*. Wilmington, DE: Wide Range, Inc.
- Simons, S.H.P., van Dijk, M., Anand, K.J.S, Roofthoof, D., van Lingen, R.A., & Tibboel, D. (2003). Do we still hurt newborn babies? A prospective study of procedural pain and analgesia in neonates. *Archives of Pediatrics & Adolescent Medicine*, *157*, 1058-1064.
- Smeets, T., Jelicic, M., & Merckelbach, H. (2006). The effect of acute stress on memory depends on word valence. *International Journal of Psychophysiology*, *62*, 30-37.
- Smeets, T., Otgaar, H., Candel, I., & Wolf, O.T. (2008). True or False? Memory is differentially affected by stress-induced cortisol elevations and sympathetic activity at consolidation and retrieval. *Psychoneuroendocrinology*, *33*, 1378-1386.
- Smith, G.C., Gutovich, J., Smyser, C., Pineda, R., Newnham, C., Tjoeng, T.H., Vavasseur,

- C., Wallendorf, M., Neil, J., & Inder, T. (2011). Neonatal intensive care unit stress is associated with brain development in preterm infants. *Annals of Neurology*, *70*, 541-549.
- Strandberg, T.E., Andersson, S., Järvenpää, A.L., & McKeigue, P.M. (2002). Preterm birth and licorice consumption during pregnancy. *American Journal of Epidemiology*, *156*, 803-805.
- Strang-Karlsson, S., Andersson, S., Paile-Hyvärinen, M., Darby, D., Hovi, P., Räikkönen, K., Pesonen, A.K., Heinonen, K., Järvenpää, A.L, Eriksson, J.G, & Kajantie, E. (2010). Slower reaction times and impaired learning in young adults with birth weight <1500 g. *Pediatrics*, *125*, 74-82.
- Sullivan, M.C., Msall, M.E., & Miller, R.J. (2012). 17-year outcome of preterm infants with diverse neonatal morbidities: Part 1 - Impact on physical, neurological, and psychological health status. *Journal for Specialists in Pediatric Nursing*, *17*, 226-241.
- Tanskanen, P., Valkama, M., Haapea, M., Barnes, A., Ridler, K., Miettunen, J., Murray, G.K., Veijola, J.M., Jones, P.B., Taanila, A. M., & Isohanni, M. K. (2011). Is prematurity associated with adult cognitive outcome and brain structure? *Pediatric Neurology*, *44*, 12-20.
- Taylor, H.G., Minich, N.M., Klein, N., & Hack, M. (2004). Longitudinal outcomes of very low birth weight: neuropsychological findings. *Journal of the International Neuropsychological Society*, *10*, 149-163.
- Torche, F., & Kleinhaus, K. (2012). Prenatal stress, gestational age and secondary sex ratio: the sex-specific effects of exposure to a natural disaster in early pregnancy. *Human Reproduction*, *27*, 558-567.
- Tzortzi, Ch., Proff, P., Redlich, M., Aframian, D.J., Palmon, A., Golan, I., Muessig, D., Wichelhaus, A., & Baumert, U. (2009). Cortisol daily rhythm in saliva of healthy school children. *International Dental Journal*, *59*, 12-18.

- Vicari, S., Caravale, B., Carlesimo, G.A., Casadei, A.M., & Allemand, F. (2004). Spatial working memory deficits in children at ages 3-4 who were low birth weight, preterm infants. *Neuropsychology, 18*, 673-678.
- Zoratto, F., Fiore, M., Ali, S.F., Laviola, G., & Macri, S. (2013). Neonatal tryptophan depletion and corticosterone supplementation modify emotional responses in adult male mice. *Psychoneuroendocrinology, 38*, 24-39.
- Wolf, O.T., Convit, A., McHugh, P.F., Kandil, E., Thorn, E.L., De Santi, S., McEwen, B.S., & de Leon, M.J. (2001). Cortisol differentially affects memory in young and elderly men. *Behavioral Neuroscience, 115*, 1002–1011.
- Wolf, O.T. (2009). Stress and memory in humans: Twelve years of progress? *Brain Research 1293*, 142-154.
- Wüst, S., Entringer, S., Federenko, I.S., Schlotz, W., & Hellhammer, D.H. (2005). Birth weight is associated with salivary cortisol responses to psychosocial stress in adult life. *Psychoneuroendocrinology, 30*, 591-598.

ANEXOS

Anexo 1: Questionário de Dificuldades e Capacidades (do inglês, *Strengths and Difficulties Questionnaire*)

Questionário de Capacidades e Dificuldades (SDQ-Port)

Pa 4-16

Instruções: Por favor, em cada item marque com uma cruz o quadrado que melhor descreva a criança. Responda a todas as perguntas da melhor maneira possível, mesmo que você não tenha certeza absoluta ou se a pergunta lhe parecer estranha. Dê suas respostas com base no comportamento da criança nos últimos seis meses.

Nome da Criança

Masculino/Feminino

Data de Nascimento

	Falso	Mais ou menos verdadeiro	Verdadeiro
Tem consideração pelos sentimentos de outras pessoas	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Não consegue parar sentado quando tem que fazer a lição ou comer; mexe-se muito, esbarrando em coisas, derrubando coisas	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Muitas vezes se queixa de dor de cabeça, dor de barriga ou enjôo	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Tem boa vontade em compartilhar doces, brinquedos, lápis ... com outras crianças	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Frequentemente tem acessos de raiva ou crises de birra	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
É solitário, prefere brincar sozinho	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Geralmente é obediente e faz normalmente o que os adultos lhe pedem	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Tem muitas preocupações, muitas vezes parece preocupado com tudo	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Tenta ser atencioso se alguém parece magoado, aflito ou se sentindo mal	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Está sempre agitado, balançando as pernas ou mexendo as mãos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Tem pelo menos um bom amigo ou amiga	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Frequentemente briga com outras crianças ou as amedronta	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Frequentemente parece triste, desanimado ou choroso	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Em geral, é querido por outras crianças	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Facilmente perde a concentração	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Fica inseguro quando tem que fazer alguma coisa pela primeira vez, facilmente perde a confiança em si mesmo	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
É gentil com crianças mais novas	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Frequentemente engana ou mente	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Outras crianças 'pegam no pé' ou atormentam-no	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Frequentemente se oferece para ajudar outras pessoas (pais, professores, outras crianças)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Pensa nas coisas antes de fazê-las	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Rouba coisas de casa, da escola ou de outros lugares	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Se dá melhor com adultos do que com outras crianças	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Tem muitos medos, assusta-se facilmente	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Completa as tarefas que começa, tem boa concentração	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Você tem algum outro comentário ou preocupações? Descreva-os abaixo.

Por favor, vire a página. Há mais algumas perguntas no outro lado

Pensando no que acabou de responder, você acha que seu filho/a tem alguma dificuldade? Pode ser uma dificuldade emocional, de comportamento, pouca concentração ou para se dar bem com outras pessoas.

	Não	Sim- pequenas dificuldades	Sim- dificuldades bem definidas	Sim- dificuldades graves
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Se você respondeu "Sim", por favor responda às seguintes questões sobre estas dificuldades:

- Há quanto tempo estas dificuldades existem?

	Menos de 1 mes	1-5 mêses	6-12 mêses	Mais de 1 ano
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

- Estas dificuldades incomodam ou aborrecem seu filho/a?

	Nada	Um pouco	Muito	Mais que muito
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

- Estas dificuldades atrapalham o dia-a-dia do seu filho/a em alguma das situações abaixo?

	Nada	Um pouco	Muito	Mais que muito
DIA-A-DIA EM CASA	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
AMIZADES	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
APRENDIZADO ESCOLAR	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
ATIVIDADES DE LAZER (PASSEIOS, ESPORTES ETC.)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

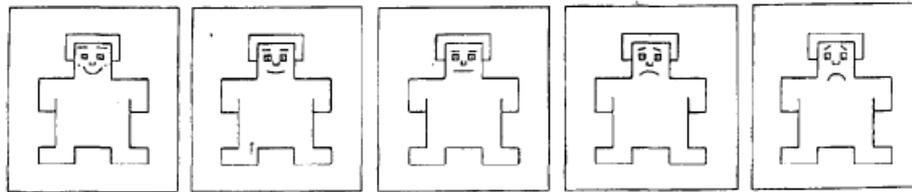
- Estas dificuldades são um peso para você ou para a família como um todo?

	Nada	Um pouco	Muito	Mais que muito
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

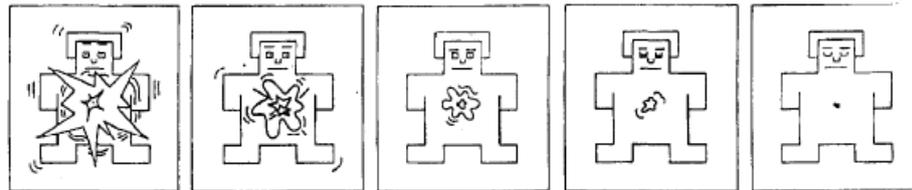
Nome completo (em letra de forma) Data

Mãe/pai/outro (especifique):

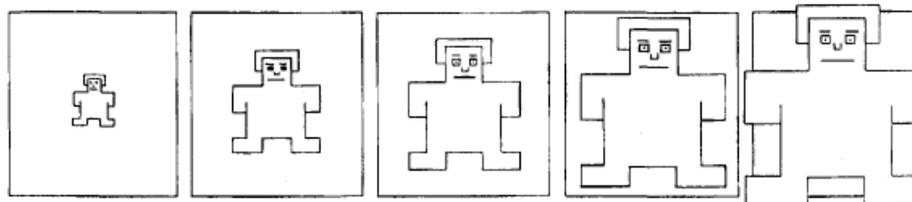
Anexo 2: SELF-ASSESSMENT MANIKIN - SAM



Prazer vs. Desprazer



Alerta vs. Relaxado



Em controle vs. dominado

APÊNDICES

Apêndice 1: Lista dos artigos publicados, em submissão e comunicações em Congressos

1) Artigo publicado

Quesada, A.A., Wiemers, U.S., Schoofs, D., & Wolf, O.T. (2012). Psychosocial stress exposure impairs memory retrieval in children. *Psychoneuroendocrinology* 37, 125-136.

Periódico indexado pelo PUBMED.

Fator de impacto: 5.809.

2) Artigo em fase de submissão

Quesada, A.A., Tristão, R.M., Pratesi, R., & Wolf, O.T. Hyper-responsiveness to acute stress, emotional problems and poorer memory in former preterm children.

3) Comunicações em Congressos

- **Apresentações orais**

SRCD Biennial Meeting 2013, Seattle, Washington , USA.

Simpósio : Stress Physiology and Memory in Children

Título da apresentação: Hyperresponse to acute stress, emotional problems and poorer memory in former preterm children

Autores: Quesada, A.A., Tristão, R.M., Pratesi, R., Wolf, O.T.

II Jornada de Neurologia Infantil e Neurogenética do Distrito Federal (2011)

Mesa Redonda: Epilepsia

Título da apresentação: Avaliação neuropsicológica

Autores: Quesada, A.A., Tristão, R.M., Bomfim, D.

- **Pôsteres**

Quesada, A.A., Tristão, R.M., Vianna, F.B., Barbosa, L.B.D., Carneiro, I.C., Minchillo, C.N., Pratesi, R., Wolf, O.T. (2012). Hyperresponse to acute stress and poorer memory in former preterm children. *European Journal of Psychotraumatology 3. 42nd Annual Conference of ISPNE*, New York, USA.

Tristão, M.R., Garcia, N.V., de Jesus, J.A., Quesada, A.A. (2012). Comfort behavior scale and skin conductance activity: Comparative analysis of parameters. *14th World Congress on Pain*, Milan, Italy.

Quesada A.A., Wiemers U.S., Schoofs D., Wolf O.T. (2011). Psychosocial stress exposure impairs memory retrieval in children. *41st Annual Conference of ISPNE*, Berlin, Germany.

Quesada A.A., Tristão R.M., Bomfim D., Vieira P.A.C. (2010). Cognitive implications of epilepsy, ADHD and dyslexia: A comparative study. *7th FENS - Forum of European Neuroscience*, Amsterdam, Netherlands.

Apêndice 2: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Brasília, ____ de _____ de 2011.

Sr (a). _____, gostaríamos de convidar seu filho (a) para participar como voluntário (a) da pesquisa “*Efeitos Mnemônicos do Estresse em Crianças*”, a ser desenvolvida por Andréa Amaro Quesada (mestre em Ciências do Comportamento e doutoranda em Ciências Médicas na UnB em parceria com Ruhr - Universität Bochum, Alemanha) e uma equipe multidisciplinar da Universidade de Brasília. A participação dele (a) não é obrigatória.

Os objetivos desse estudo são: verificar se crianças nascidas pré-termo e submetidas a estresse pré-natal e pós-natal apresentam níveis de cortisol (hormônio do estresse) mais elevados que crianças a termo, saudáveis, de mesma faixa etária, nível educacional e sócio-econômico (grupo controle); (2) a influência do estresse na memória.

A participação de seu filho (a) consistirá na realização de testes de memória e de uma apresentação oral para um comitê constituído por dois estudantes de Medicina. Além disso, será necessária coleta de saliva em dois dias consecutivos para avaliar o estresse de sua criança. Essas amostras serão obtidas em sua residência. Para realização dos testes de memória e da apresentação oral será necessário que ele (a) participe de duas sessões de aproximadamente 1 hora e 15 minutos cada. Na última sessão, a saliva também será coletada. Será também solicitado que o senhor (a) responda perguntas sobre seu filho (a) por meio de questionários. O senhor (a) tem todo o direito de recusar-se a responder aquelas que lhe tragam contrangimentos de alguma forma. O tempo de duração de aplicação dos questionários é de aproximadamente 15 minutos.

A avaliação de memória será realizada em um ambiente de jogos e brincadeiras. A qualquer momento a criança, pais ou responsáveis têm o direito de se recusar a responder questões que lhes tragam constrangimentos ou de desistir da participação nessa pesquisa, não acarretando qualquer prejuízo à continuidade da assistência.

Ao final da avaliação, os responsáveis pela criança receberão um relatório com as conclusões das avaliações realizadas, contendo orientações e sugestões de atividades que possam ajudar na melhoria da qualidade de vida dessas crianças. Os resultados serão para fins de estudos científicos, portanto, todos os dados coletados serão confidenciais e o sigilo

das pessoas envolvidas é assegurado. Os dados e material utilizados na pesquisa serão guardados no Ambulatório de Crescimento e Desenvolvimento da Universidade de Brasília, sob a responsabilidade do pesquisador responsável, de acordo com a Resolução nº 196/96 do Conselho Nacional de Saúde.

Esclarecimentos adicionais poderão ser obtidos diretamente com as pesquisadoras ou pelo telefone 8140-5526.

Em caso de concordância, solicitamos, por gentileza, assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, redigido em duas vias, sendo uma do (a) Sr(a). e outra do pesquisador. Nessa cópia consta o telefone e o endereço institucional do pesquisador principal e você pode tirar suas dúvidas sobre o projeto e a participação agora ou a qualquer momento.

Eu, _____ e meu filho (a) _____ após ter recebido as informações acima e termos esclarecido todas as nossas dúvidas, declaramos que entendemos todos os objetivos, riscos e benefícios de nossa participação e concordamos em participar voluntariamente dessa pesquisa. Declaramos ainda ter recebido uma via do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

_____	_____	_____
Participante	Pais ou representante Legal	Data

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o consentimento Livre e Esclarecido desse participante e de seu representante legal para participação nesse estudo.

_____	_____
Pesquisador Responsável: Andrea Quesada	Data

CRP: 11174/DF

1.Contato: 8140-5526. Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília. Campus Universitário, Asa Norte.

