

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM PSIQUIATRIA E CIÊNCIAS DO
COMPORTAMENTO



ANGÉLICA CERVEIRA DE BAUMONT

ESTUDO DE BIOMARCADORES IMUNOLÓGICOS E DE
ENVELHECIMENTO CELULAR NO CURSO DOS TRANSTORNOS DE
ANSIEDADE

Porto Alegre, 2019

CIP - Catalogação na Publicação

de Baumont, Angelica Cerveira
ESTUDO DE BIOMARCADORES IMUNOLÓGICOS E DE
ENVELHECIMENTO CELULAR NO CURSO DOS TRANSTORNOS DE
ANSIEDADE / Angelica Cerveira de Baumont. -- 2019.
94 f.
Orientadora: Gisele Gus Manfro.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio
Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de
Pós-Graduação em Psiquiatria e Ciências do
Comportamento, Porto Alegre, BR-RS, 2019.

1. Transtornos de Ansiedade. 2. Marcadores
inflamatórios. 3. Envelhecimento celular. I. Manfro,
Gisele Gus, orient. II. Título.

ANGÉLICA CERVEIRA DE BAUMONT

**ESTUDO DE BIOMARCADORES IMUNOLÓGICOS E DE
ENVELHECIMENTO CELULAR NO CURSO DOS TRANSTORNOS DE
ANSIEDADE**

Tese apresentada como requisito parcial para a obtenção do título de Doutora em Psiquiatria e Ciências do Comportamento, à Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Programa de Pós-Graduação em Psiquiatria e Ciências do Comportamento.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Gisele Gus Manfro

Porto Alegre, 2019

DEDICATÓRIA

À pequena cientista Elis.

AGRADECIMENTOS

Quatro anos é bastante tempo. Vidas começam e terminam em quatro anos. Relacionamentos acabam, crianças crescem, carreiras se consolidam, transformações profundas acontecem.

Nesses quatro anos cresci, me transmutei, caí, chorei, levantei, segui. Nunca só. Tive a sorte de contar com pessoas incríveis ao longo dessa marcha. Pessoas que me fizeram chegar a essa página hoje.

Agradeço à minha família, que me deu o suporte necessário para chegar aqui. À Elis por ser minha luz e inspiração. Aos meus pais por zelarem por essa luzinha, nos acolherem, acolherem minhas escolhas e lutarem comigo. Meus irmãos pelo apoio fundamental e sempre generoso nos momentos de durezas da vida. Ao pai e familiares da minha pequena, por me auxiliarem também na difícil missão de ser uma mãe doutoranda.

Aos meus amigos da vida, da música e das artes, agradeço os momentos de leveza e conforto que me salvaram das dores cotidianas. À Márcia, ao Boca, aos amigos do grupo UPA!, do curso The Flash, da música da UFRGS, a toda essa família formada nos palcos e bastidores, de magias e resistência.

Às companheiras de luta feminista e coletivo, agradeço pela força compartilhada, que me permitiu não desistir apesar das dificuldades inerentes ao ser mulher, mãe, trabalhadora, num meio e carreira nem sempre acessível e acolhedor.

Agradeço profundamente ao grupo de pesquisa Protan/Protaia que me acolheu de forma tão amiga, pela assistência, ensinamentos, discussões sempre instigantes, pela colaboração fundamental em cada passo desse trabalho. Agradecimentos infinitos à colega e amiga Andressa, que me trouxe a esse grupo, me abriu portas, ensinou caminhos, acompanhou vários passos e agruras desse trabalho e da minha vida, me aconselhou, inspirou e se fez presente sempre que precisei.

A todos os colaboradores desse trabalho pela ajuda sempre além do esperado. Florencia, Patrícia, Lucas, Gabriel, Luciano, Bianca, Cristiano, Maurício, Giovanni, a contribuição de cada um foi imensa e fundamental, e acima de qualquer resultado a certeza de que ciência é possível pelo trabalho conjunto é nosso maior legado.

Aos professores e colegas do PPG Psiquiatria, Brain e todos os laboratórios que me acolheram no CPE. Aos maravilhosos Cláudia e Everaldo, não só sempre solícitos como sempre me salvando em momentos de dificuldades.

Ao PPG psiquiatria e Ciências do Comportamento, à Universidade Federal do Rio Grande do Sul e ao Hospital de Clínicas de Porto Alegre, pelo ensino e pesquisa de excelência. À CAPES, pela bolsa de estudos que me oportunizou a realização desse doutorado. Aos adolescentes participantes do estudo e suas famílias, por acreditarem e contribuírem com a pesquisa.

Às professoras da banca examinadora, Dra. Clarissa Severino Gama (UFRGS), Dra. Ursula Matte (UFRGS) e Dra. Silvana Almeida (UFCSPA), pela avaliação e contribuições a esse trabalho.

E finalmente, agradeço infinitamente à minha orientadora Gisele. Pela paciência, compreensão, apoio. Por não me deixar sucumbir, por ouvir meus lamentos e me levantar nos momentos de desesperança. Por ser um exemplo e inspiração de mulher que luta e abraça. Por esse doutorado e por me proporcionar resgatar minha fé em mim mesma, meu muito obrigada.

EPÍGRAFE

“Cada pessoa deve trabalhar para o seu aperfeiçoamento e, ao mesmo tempo, participar da responsabilidade coletiva por toda a humanidade.”

(Marie Curie)

RESUMO

Os transtornos de ansiedade (TAs) são considerados o maior grupo de transtornos mentais incapacitantes, com início durante a infância, adolescência ou começo da idade adulta. Se não tratados, os TAs tendem a ser crônicos com curso flutuante, associados à ocorrência de depressão e várias outras condições. Novos estudos vem sendo desenvolvidos para avaliar marcadores biológicos (biomarcadores) com alto valor preditivo, para melhor compreensão do desenvolvimento dos TAs. Nesse sentido, a inflamação e componentes do sistema imune – incluindo citocinas pró e antiinflamatórias, o *stress* oxidativo, o encurtamento do comprimento dos telômeros e a aceleração da idade epigenética a partir de perfis de metilação de citosina fosfato guaninas (CpGs) no DNA poderiam ser considerados potenciais biomarcadores para estudos em TAs. O objetivo desse estudo foi avaliar a associação entre esses plausíveis biomarcadores e TAs ao longo do tempo. Primeiro, estudamos um possível papel dos TAs na predição dos níveis séricos de interleucina-10 (IL-10), interleucina-6 (IL-6), interleucina-1 β (IL-1 β), fator de necrose tumoral- α (TNF- α), fator neurotrófico derivado do encéfalo (BDNF) e conteúdo proteico de carbonila (PCC), avaliados em uma população de adolescentes oriundos de uma amostra comunitária após 5 anos de seguimento. Então, investigamos o comprimento dos telômeros (CT) e a idade de metilação do DNA (idade de DNAm) em TAs no início do estudo e após 5 anos, comparando as diferentes trajetórias de TAs. Nós demonstramos uma associação direta significativa entre a presença de TAs no início do estudo e o log IL-6 ($B = 0,34$, $SE = 0,11$, $p = 0,002$) e o log BDNF ($B = -0,10$, $EP = 0,05$, $p = 0,033$) cinco anos mais tarde, sugerindo que o diagnóstico prévio de TA previu níveis mais altos de IL-6 e menores níveis de BDNF no seguimento. Por outro lado, não encontramos diferenças significativas entre as trajetórias dos TAs em relação à aceleração da idade epigenética. Em relação ao CT, os ansiosos crônicos não reduziram significativamente seus telômeros. Além disso, não houve correlação significativa entre a CT e idade de DNAm. Esses achados apontam para IL-6 e BDNF como potenciais biomarcadores para os TAs, destacando que fenômenos inflamatórios pode ocorrer no contexto de transtornos psiquiátricos na infância e adolescência, enquanto sugerem que os marcadores de envelhecimento celular no âmbito dos TAs poderiam não ser biomarcadores muito promissores nessa faixa etária. Novos estudos poderiam avaliar melhor essas associações em indivíduos jovens, a fim de buscar marcadores efetivos que auxiliem no diagnóstico, prognóstico e compreensão do desenvolvimento e trajetórias dos TAs.

ABSTRACT

Anxiety disorders (ADs) are the largest group of disabling mental disorders in most western societies, with onset during childhood, adolescence or early adulthood. If untreated, ADs tend to be chronic with waxing and waning course associated to the co-occurrence of depression and several other conditions. New studies have been designed to evaluate biological markers (biomarkers) with high predictive value to better understand the development of ADs. In this sense, inflammation and immune system components, including pro- and anti-inflammatory cytokines, oxidative stress, telomere length (TL) shortening and epigenetic age acceleration from DNA methylation (DNAm) profiles of cytosine phosphate guanines (CpGs) could be potential biomarkers to studies in ADs. In this study, we aimed to evaluate the association between these plausible biomarkers and ADs over time. First, we studied a possible role of ADs in predicting serum levels of interleukin-10 (IL-10), interleukin-6 (IL-6), interleukin-1 β (IL-1 β), tumor necrosis factor- α (TNF- α), brain-derived neurotrophic factor (BDNF), and protein carbonyl content (PCC), assessed in a community sample of adolescents after 5 years of follow-up. So, we investigate TL and DNA methylation age (DNAm age) in ADs at baseline and after 5 years, comparing the different trajectories of ADs. We found a significant direct association between the presence of ADs at baseline and log IL-6 ($B = 0.34$, S.E. = 0.11, $p = 0.002$) and log BDNF ($B = -0.10$, S.E. = 0.05, $p = 0.033$) five years later, suggesting that previous AD diagnosis predicted higher levels of IL-6 and lower BDNF levels in the follow-up evaluation. On the other hand, we did not find significant differences between the trajectories of the ADs in relation to the acceleration of the epigenetic age. With respect to CT, chronic anxieties did not significantly reduce their telomeres. In addition, there was no significant correlation between CT and age of mDNA. These findings point to IL-6 and BDNF as potential biomarkers for ADs, noting that inflammatory phenomena may occur in the context of psychiatric disorders in childhood and adolescence, while suggesting that cellular aging markers within ADs may not be very promising biomarkers in this age group. New studies could better evaluate these associations in young individuals, in order to find effective markers that aid in the diagnosis, prognosis and understanding of the development and trajectories of the ADs.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

- ACC: Córtex cingulado anterior
- BDNF: Fator neurotrófico derivado do encéfalo
- CPFm: Córtex pré-frontal ventromedial
- CpGs: citosina fosfato guaninas
- CT / TL: Comprimento de telomere / *Telomere length*
- DNA: Ácido desoxirribonucléico
- DNA: ácido desoxirribonucléico
- DNAm: Metilação do DNA
- DNMT: DNA metiltransferase
- DSM-5: 5º edição do Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais
- DSM-5: Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais
- EROs: Espécies reativas de oxigênio
- FE: fobia específica
- GADI*: Gene da glutamato descarboxilase 1
- GWAS*: *Genome wide association studies*
- HCPA: Hospital de Clínicas de Porto Alegre
- IFN- γ : Interferon- gama
- IL: Interleucina
- IL10: Interleucina 10
- IL1 β : Interleucina 1 beta
- IL6: Interleucina 6
- MAOA*: Gene da monoamina oxidase subtipo A
- NR3C1*: Gene do receptor de glicocorticóide (*nuclear receptor subfamily 3 group C member 1*)
- OXTR*: Gene do receptor de ocitocina
- pb: Pares de bases
- PCC: Conteúdo proteico de carbonila
- PCR: Reação em cadeia da polimerase
- Protaia: Programa de transtornos de ansiedade na infância e adolescência
- SLC6A4*: Gene do transportador de soluto família 6 membro 4
- SNC: Sistema nervoso central
- TA(s): Transtorno(s) de ansiedade

TAG: Transtorno de ansiedade generalizada

TAS: Transtorno de ansiedade social

TASep: Transtorno de ansiedade de separação

TEPT: Transtorno de stress pós-traumático

TNF- α : Fator de necrose tumoral alfa

TP: Transtorno do pânico

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadro 1 - Caracterização dos Transtornos de Ansiedade.....	15
Figura 1 - Principais regiões do cérebro envolvidas na geração e regulação das emoções e detecção de ameaças.....	17
Figura 2 - Neuroinflamação não patológica.....	19
Figura 3 - Metilação do DNA.....	21
Figura 4 - Organização e sinalização de telômeros.....	23
Figura 5 - Aceleração da idade baseada na metilação do DNA em vários tecidos.....	25
Figura 6 - Biomarcadores imunológicos e de envelhecimento celular em adolescentes com transtornos de ansiedade.....	84

SUMÁRIO

1 APRESENTAÇÃO	13
2 INTRODUÇÃO	14
2.1 <i>Epidemiologia e Trajetórias dos Transtornos de Ansiedade</i>	15
2.2 <i>Neurofisiopatologia dos Transtornos de Ansiedade</i>	16
2.3 <i>O sistema imune e os Transtornos de Ansiedade: a hipótese da neuroinflamação</i>	18
2.4 <i>Fatores genéticos e epigenéticos na etiologia dos Transtornos de Ansiedade</i>	19
2.5 <i>Novas abordagens: o envelhecimento celular nos Transtornos de Ansiedade</i>	22
2.5.1 <i>Encurtamento de telômeros nos TAs</i>	22
2.5.2 <i>Aceleração da idade epigenética nos TAs</i>	24
3 JUSTIFICATIVA	26
4 OBJETIVOS	27
4.1 <i>Objetivo Geral</i>	27
4.2 <i>Objetivos Específicos</i>	27
5 ARTIGO #1	28
6 ARTIGO #2	55
7 DISCUSSÃO E CONSIDERAÇÕES FINAIS	80
8 PERSPECTIVAS	84
9 DIVULGAÇÃO PARCIAL DOS RESULTADOS	85
REFERÊNCIAS	86

1 APRESENTAÇÃO

Este trabalho consiste na tese de doutorado intitulada “Estudo de Biomarcadores Imunológicos e de Envelhecimento Celular no Curso dos Transtornos de Ansiedade”, apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Psiquiatria e Ciências do Comportamento da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul em Fevereiro de 2019. Está organizado na seguinte ordem: Introdução, Justificativa, Objetivos, Artigo #1 (submetido ao *Journal of Psychiatric Research*), Artigo #2 (submetido ao *The World Journal of Biological Psychiatry*), e Considerações Finais.

Os artigos apresentados nesta tese fizeram parte de um grande projeto intitulado Avaliação Multidimensional e Tratamento da Ansiedade em Crianças e Adolescentes – Projeto PROTIAA, cujos objetivos foram avaliar em uma coorte de crianças e adolescentes, minuciosamente caracterizada, múltiplos aspectos envolvidos com os Transtornos de Ansiedade (TAs). O Projeto compreendeu avaliações acerca de aspectos da neuropsicologia, nutrição, neurocognição, genética, marcadores inflamatórios, erosão telomérica, neuroimagem funcional, entre outros considerados relevantes para o estudo dos TAs.

O artigo #1, intitulado “Anxiety disorders in childhood can predict youth IL-6 and BDNF levels: a mediation study including metabolic stress and childhood traumatic events”, se propôs a investigar um possível papel dos TAs na predição dos níveis séricos dos marcadores inflamatórios IL-10, IL-6, IL1 β , TNF- α , BDNF, e conteúdo de proteína carbonil como um indicador de *stress* oxidativo, avaliados após 5 anos de acompanhamento em adolescentes. Além disso, buscou-se possíveis mediadores para essas associações, incluindo atividade física, marcadores metabólicos e trauma na infância.

No artigo #2, denominado “A longitudinal study evaluating cellular ageing in adolescents with different anxiety disorder trajectories”, o encurtamento do comprimento dos telômeros (CT) e a idade epigenética, ou de metilação do DNA foram avaliados no início do estudo e após um período de acompanhamento de 5 anos, a fim de investigar se diferentes trajetórias dos TAs estariam associadas a um envelhecimento celular acelerado.

Através dos estudos aqui apresentados, procurou-se propor possíveis biomarcadores que auxiliem a compreender a fisiopatologia dos TAs, bem como auxiliem no diagnóstico, prognóstico e tratamento desses transtornos.

2 INTRODUÇÃO

O termo ansiedade refere-se às respostas fisiológicas frente a algum estímulo que o cérebro considere como perigoso ou ameaçador, seja esta ameaça real ou imaginária. Evolutivamente, similaridades entre as espécies em relação às respostas ao perigo e aos circuitos cerebrais envolvidos apontam para aspectos adaptativos da ansiedade. Portanto, a ansiedade não é tipicamente patológica, uma vez que se trata de uma resposta adaptativa em muitos cenários nos quais protege contra a presença de uma ameaça ou perigo iminente. Porém, quando se torna excessivamente frequente, grave e persistente, passa a ser considerada disfuncional ou patológica. Assim, a ansiedade patológica em qualquer idade pode ser caracterizada por graus persistentes ou intensos de ansiedade e esquiva associados a sofrimento ou prejuízo subjetivo (BEESDO; KNAPPE; PINE, 2011).

Nesse sentido, os Transtornos de Ansiedade (TAs) compreendem os níveis de manifestações dos sintomas ansiosos de maneira persistente e acarretando prejuízo aos indivíduos. Segundo a mais recente edição do Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (DSM-5), os TAs incluem: fobia específica (FE), transtorno de ansiedade generalizada (TAG), transtorno de ansiedade social (TAS, anteriormente fobia social), transtorno do pânico (TP), agorafobia, transtorno de ansiedade de separação (TASep) e mutismo seletivo (CRESWELL; WAITE; COOPER, 2014). Diferentemente da versão anterior (DSM-IV), no DSM-5, transtorno de *stress* pós-traumático (TEPT) e transtorno de *stress* agudo são agrupados no subgrupo transtornos relacionados ao trauma e a estressores, ou seja, já não estão incluídos na categoria TAs (CRESWELL; WAITE; COOPER, 2014). O Quadro 1 apresenta as principais características de cada um dos TAs.

Esses transtornos tipicamente têm um impacto negativo sobre desempenho escolar, vida familiar e atividades de lazer (ESSAU; CONRADT, 2000; EZPELETA et al., 2001). Os TAs em jovens estão associados com o aumento das taxas de ansiedade e depressão na vida adulta precoce, uso de substâncias psicoativas, bem como com uma série de outros eventos adversos para a saúde mental e curso de vida (WOODWARD; FERGUSON, 2001).

Quadro 1 - Caracterização dos Transtornos de Ansiedade.

FE: caracteriza-se por reações exacerbadas de medo irracional a lugares, situações ou objetos comuns considerados ameaçadores ou perigosos pelos indivíduos, por um período de 6 meses ou mais.
TAG: compreende preocupação e ansiedade excessivas sobre diversos eventos da vida, por no mínimo 6 meses, incluindo sintomas como fadiga, distúrbios do sono, dores de cabeça, tensão muscular, irritabilidade, levando a comprometimento da qualidade de vida em diversos âmbitos.
TAS: compreendem ansiedade social suficientemente alta e/ou recorrente, de tal forma que prejudica as interações sociais do indivíduo, incluindo medo e evitação de situações sociais, durante no mínimo 6 meses.
TP: envolve a presença de ataques de pânico recorrentes e inesperados e preocupação persistente (por um mês ou mais) sobre os ataques adicionais de pânico e suas consequências, assim como comportamento evitativo.
Agorafobia: caracterizada por medo ou ansiedade acentuada sobre a exposição a espaços públicos, temida e evitada porque a pessoa acredita que a fuga pode ser difícil ou a ajuda pode não estar disponível em caso de desenvolver sintomas ansiosos.
TASep: inclui manifestações como desconforto com a ideia de separação, medo de estar sozinho ou sem a figura de afeto, em níveis exagerados e descontextualizados, por no mínimo 6 meses.
Mutismo seletivo: comum na infância, consiste em ausência de fala, evidenciada por no mínimo um mês, em situações públicas específicas em que é esperada a fala da criança.

(ASMUNDSON; TAYLOR; SMITS, 2014; BATTAGLIA, 2015; STEIN; SAREEN, 2015; WONG; GREGORY; MCLELLAN, 2016).

2.1 Epidemiologia e Trajetórias dos Transtornos de Ansiedade

Aproximadamente um em cada quatro indivíduos provavelmente tem ou já tiveram algum transtorno de ansiedade (KESSLER et al., 2012). A estimativa de prevalência ao longo da vida para os TAs varia entre 4,8% na China a 31% nos Estados Unidos, e a prevalência global de 12 meses varia entre 2,4% na Itália a 29,8% no México, sendo específicas para cada país e dependentes dos instrumentos utilizados para avaliação. Globalmente, a prevalência de 12 meses é ligeiramente menor do que a prevalência ao longo da vida, indicando que os transtornos de ansiedade são relativamente persistentes (CRASKE et al., 2017).

De acordo com dados retrospectivos e prospectivos em populações de crianças e adolescentes, a maioria dos TAs começa cedo na vida. Os TAs estão entre os transtornos psiquiátricos mais comuns em jovens, com estudos indicando uma prevalência entre 9% e 32% durante a infância e adolescência (CRESWELL; WAITE; COOPER, 2014). No Brasil,

foi descrita uma prevalência de 5,2% para qualquer transtorno de ansiedade em uma amostra de 1.251 escolares (Tabela 1) (FLEITLICH-BILYK; GOODMAN, 2004). As fobias e a ansiedade de separação têm um início particularmente precoce, com o maior risco de incidência entre os 6 e os 17 anos de idade. No entanto, para alguns TAs, como o TAG por exemplo, a ansiedade pode surgir na idade adulta e no final da vida (CRASKE et al., 2017).

Tabela 1 - Prevalência (percentual e IC 95%) para Transtornos de Ansiedade do DSM-IV para a população de Taubaté, Brasil (N = 1.251).

TA (DSM-IV)	Prevalência (IC 95%)
Qualquer transtorno de ansiedade	5,2 (3,4 - 7,0)
Transtorno de separação	1,4 (0,6 - 2,2)
Fobia específica	1,0 (0,3 - 1,8)
Fobia social	0,7 (0,1 - 1,3)
Transtorno de ansiedade generalizada	0,4 (0 - 0,8)
Ansiedade não especificada	2,1 (1,0 - 3,3)

Adaptado de FLEITLICH-BILYK; GOODMAN, 2004.

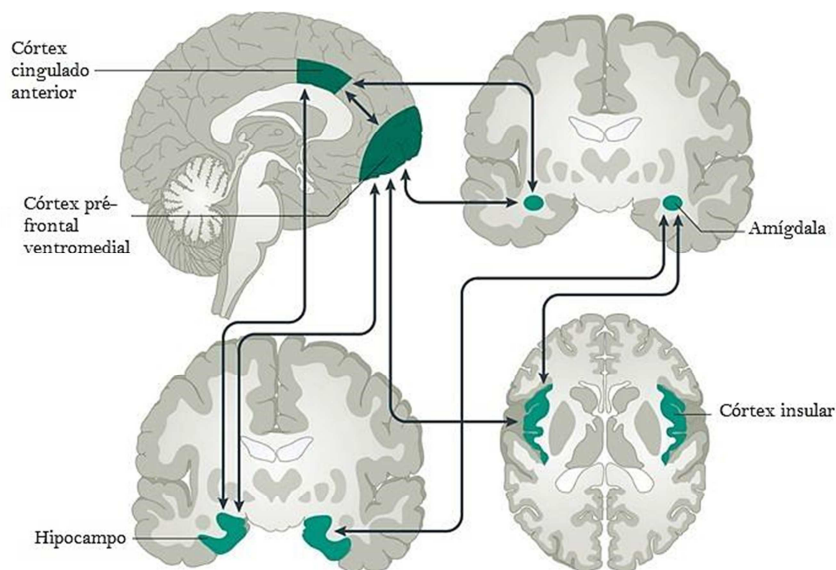
No que diz respeito ao curso ao longo da vida, os TAs são condições crônicas altamente persistentes, como sugerem os achados de estudos clínicos e transversais, e a persistência do transtorno parece ser mais devida à recorrência do que à cronicidade (ASSELMANN; BEESDO-BAUM, 2015; GREEN et al., 2013). Estudos longitudinais prospectivos constataram que os TAs na infância ou adolescência são fortes preditores para a presença da mesma condição (continuidade homotípica), bem como para a presença de outros transtornos mentais (continuidade heterotípica) ao longo da vida (ASSELMANN; BEESDO-BAUM, 2015; COPELAND et al., 2013). Entretanto, apenas uma minoria de indivíduos foi diagnosticada com o mesmo distúrbio em vários momentos (BEESDO-BAUM et al., 2012). Com relação à continuidade heterotípica, associações particularmente fortes são relatadas para os transtornos de ansiedade e depressão subsequente (ASSELMANN; BEESDO-BAUM, 2015; BRUCE et al., 2005).

2.2 Neurofisiopatologia dos Transtornos de Ansiedade

Estudos com neuroimagem estrutural e funcional revelam alterações na amígdala, córtex cingulado anterior e hipocampo envolvidos em todos os TAs (Fig. 1). O aumento do volume da amígdala parece estar correlacionado com mais sintomas de ansiedade (MACHADO-DE-SOUSA et al., 2014; QIN et al., 2014). Pacientes com TAS mostram

aumento da ativação da amígdala durante a apresentação de sintomas de ansiedade antecipatória comparados a indivíduos saudáveis sem o transtorno (BOEHME et al., 2014). Foi observado que pacientes com TAG apresentam atividade anormal da amígdala e do córtex pré-frontal, baixa conectividade entre amígdala, córtex cingulado anterior e córtex pré-frontal, além de volume aumentado da substância cinzenta na amígdala bilateral, e conectividade estrutural diminuída entre essas estruturas (HILBERT; LUEKEN; BEESDO-BAUM, 2014). DUVAL; JAVANBAKHT; LIBERZON, 2015 sugerem a diminuição da conectividade entre as áreas geradoras de emoção (amígdala, ínsula) e as regiões reguladoras corticais (córtex pré-frontal medial, córtex cingulado anterior rostral).

Figura 1 - Principais regiões do cérebro envolvidas na geração e regulação das emoções e detecção de ameaças.



Nesse modelo, o medo e a ansiedade causados pela amígdala são regulados por meio de conexões bidirecionais com o córtex pré-frontal ventromedial (CPFm) e o córtex cingulado anterior (ACC), juntamente com as conexões entre essas regiões e o hipocampo (CRASKE et al., 2017).

Algumas alterações evidenciadas em testes neuropsicológicos também estão associadas aos transtornos de ansiedade em crianças, adolescentes e adultos, incluindo alterações na memória de trabalho, viés atencional e reconhecimento de faces (JARROS et al., 2012; SALUM et al., 2013a). Além disso, o avanço de novos métodos bioestatísticos e moleculares tem possibilitado à investigação sobre a etiologia dos TAs sugerir mecanismos

neurobiológicos envolvidos na gênese e desenvolvimento desses transtornos mentais (KENDLER, 2013).

2.3 O sistema imune e os Transtornos de Ansiedade: a hipótese da neuroinflamação

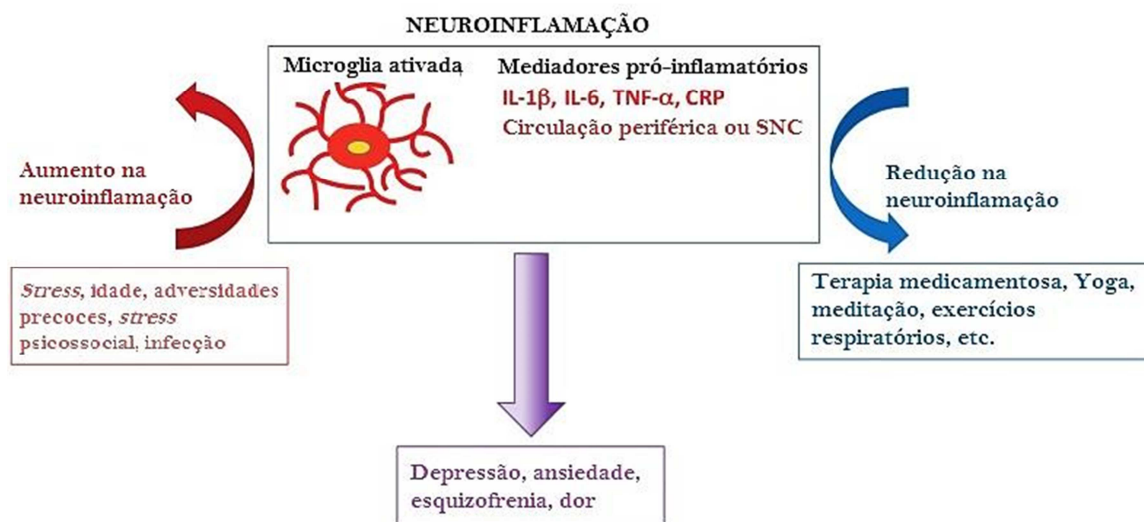
O termo “neuroinflamação” é usado para descrever os processos relacionados ao sistema imunológico que ocorrem no sistema nervoso central (SNC). A neuroinflamação não patológica refere-se a condições que não exibem quebra significativa da barreira hematoencefálica, infiltração de células imunes periféricas, ou perda da integridade do SNC, incluindo doença mediada por citocinas após infecção, *stress* psicológico e envelhecimento. Os sinais inflamatórios que chegam ao SNC são interpretados e propagados pelas células imunes residentes, que produzem citocinas, quimiocinas e mensageiros secundários. Em geral, as respostas inflamatórias transitórias no SNC são benéficas, porém a neuroinflamação crônica é mal-adaptativa e afeta profundamente a plasticidade neuronal e a homeostase cerebral (WOHLEB; GODBOUT, 2013).

A neuroinflamação prolongada está comumente associada a doenças crônicas, doenças neurodegenerativas, *stress* e envelhecimento, prejudicando a regulação neuroimune e afetando negativamente os processos cognitivos e comportamentais normais (WOHLEB; GODBOUT, 2013). Neuroinflamação e desregulação da microglia estão associados a transtornos psiquiátricos, incluindo transtorno obsessivo-compulsivo e esquizofrenia (BECHTER et al., 2010; RODRÍGUEZ et al., 2017). Além disso, regiões específicas do cérebro que respondem ao *stress* têm ativação correspondente de neurônios e microglia que promovem o desenvolvimento de comportamentos semelhantes à ansiedade (HINWOOD et al., 2012; TYNAN et al., 2010; WOHLEB et al., 2011). Sabe-se que o *stress* psicológico promove o desenvolvimento de déficits comportamentais, incluindo ansiedade, isolamento social e comportamentos depressivos em roedores, consistente com relatos clínicos que indicam que altos níveis de *stress* estão associados a condições inflamatórias e uma maior incidência de transtornos mentais, incluindo depressão e ansiedade (O’DONOVAN et al., 2012; WOHLEB et al., 2011; WOHLEB; GODBOUT, 2013).

Acredita-se que a ativação das células da glia pode induzir um aumento nos níveis de citocinas pró- e anti-inflamatórias e espécies reativas de oxigênio, o que pode levar à modulação da função neuronal e da neurotoxicidade observadas em diversas patologias cerebrais (Giacobbo et al, 2018). Em condições de *stress* físico ou psicológico, a circulação de citocinas pró-inflamatórias está aumentada (MOONS; SHIELDS, 2015). Desequilíbrios nas concentrações sistêmicas de citocinas pró-inflamatórias como fator de necrose tumoral- α

(TNF- α), interleucina-1 β (IL-1 β) e interferon- gama (IFN- γ), e anti-inflamatórias, como interleucina-10 (IL-10), têm sido implicados na etiologia e sintomatologia dos TAs (BELEM DA SILVA et al., 2016; DUIVIS et al., 2013; HOU et al., 2017; OGŁODEK et al., 2015; WOHLEB; GODBOUT, 2013). Além disso, a inflamação crônica facilita a liberação de potentes espécies reativas de oxigênio (EROs) e um aumento no estado de *stress* oxidativo, e essas condições também foram associadas aos TAs (BOUAYED; RAMMAL; SOULIMANI, 2009; ERCAN et al., 2017). Nesse sentido, é de fundamental importância a compreensão da regulação neuroimune e os mecanismos que medeiam a neuroinflamação, pois essas vias provavelmente contribuem para a fisiopatologia dos TAs.

Figura 2 - Neuroinflamação não patológica.



Estressores diversos podem estimular a microglia e ativar processos neuroinflamatórios que incluem o aumento de mediadores pró-inflamatórios tanto na circulação periférica quanto no sistema nervoso central (SNC). A neuroinflamação está subjacente a muitos transtornos psiquiátricos, incluindo depressão, ansiedade e esquizofrenia. Adaptado de LURIE, 2018.

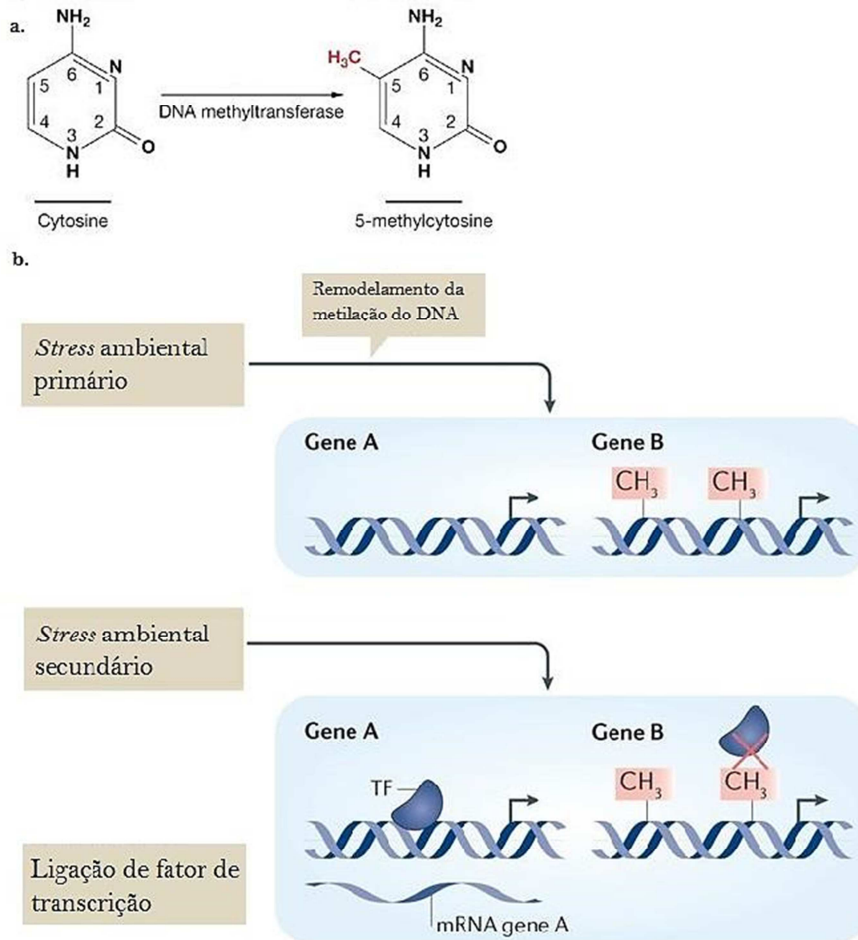
2.4 Fatores genéticos e epigenéticos na etiologia dos Transtornos de Ansiedade

Sob o ponto de vista genético, os TAs são considerados transtornos complexos, ou seja, refletem a influência de vários ou muitos genes de pequeno efeito, interagindo com outros genes e modulados por fatores ambientais (ASK et al., 2016; SALUM et al., 2013b; SMOLLER; BLOCK; YOUNG, 2009). Estudos com gêmeos sugerem que a herdabilidade dos TAs, ou seja, a proporção da variabilidade fenotípica explicada por fatores genéticos, varia entre 30 e 40% (CRASKE et al., 2017; SHIMADA-SUGIMOTO; OTOWA;

HETTEMA, 2015). Dados de estudos com gêmeos também indicam uma considerável sobreposição genética entre os diferentes transtornos de ansiedade e seus sintomas associados, tanto em adultos como em crianças e adolescentes (KENDLER et al., 2011; WASZCZUK et al., 2014). Abordagens recentes de GWAS (*genome wide association studies*) tem identificado, a partir de sistemas neurais envolvidos nos TAs, genes de suscetibilidade como *FKBP5*, que codifica uma molécula reguladora do receptor de glicocorticóide e *FAAH*, que codifica a enzima degradante de endocanabinóide, associados ao aumento da reatividade da amígdala e redução das conexões entre amígdala e hipocampo (CRASKE et al., 2017).

Mais recentemente, tem se destacado os estudos acerca da “epigenética”, definida como o conjunto de alterações reversíveis na expressão gênica que não coincidem com alterações na sequência do DNA e podem ser transferidas para gerações sucessivas de células (MAZE, I; NESTER, 2011). Os mecanismos epigenéticos que regulam a expressão gênica compreendem a remodelação da cromatina, metilação do DNA e RNAs não codificantes. A metilação do DNA controla genes de marcação da expressão gênica para silenciamento ou ativação. Especificamente, as metiltransferases de DNA marcam o DNA transferindo um grupo metil para a posição 5' do anel de citosina pirimidina para produzir 5'-metilcitosina (5'-mC) (Fig. 3 a). Isto ocorre frequentemente em dinucleótidos de citosina - guanina (CpG) para formar 5' dinucleótidos de metilcitosina guanina (mCG). Regiões de DNA que contêm alta densidade de dinucleotídeos CpG são “ilhas CpG” e a maioria está localizada em regiões promotoras. Quando as modificações epigenéticas são, principalmente, em regiões regulatórias (regiões promotoras, por exemplo), elas regulam o estado transcricional do gene: hipermetilação reprime a transcrição enquanto que o estado hipometilado pode levar ao aumento dos níveis de transcrição (Fig. 3 b) (MAZE, I; NESTER, 2011; ZHANG; MEANEY, 2010).

Figura 3 - Metilação do DNA.



a) As metiltransferases de DNA catalisam a transferência do grupo metilo para a posição 5 da citosina no ADN, produzindo 5-metilcitosina. b) Efeito potencial de alterações epigenéticas induzidas pelo ambiente na expressão gênica. Neste modelo hipotético, o gene A é hipometilado, enquanto o gene B é hipermetilado em resposta a estímulos ambientais. As alterações na expressão gênica podem não ocorrer até que um *stress* ambiental secundário ou estado fisiológico específico seja alterado, permitindo que fatores específicos de transcrição se liguem ao gene hipometilado A, mas não ao gene B hipermetilado, o que resulta na transcrição do gene A. Adaptado de BARRÈS; ZIERATH, 2016 e RICHARDSON, 2007.

Estudos envolvendo diferentes tecidos e métodos sugerem diferenças nos padrões de metilação do DNA entre indivíduos com e sem diagnóstico psiquiátrico. Tais diferenças são encontradas tanto em genes candidatos, como *SLC6A4*, *MAOA*, *NR3C1*, quanto na metilação do DNA global (DOMSCHKE et al., 2012; NIETO et al., 2016; TYRKA et al., 2012, 2015). Em TP em adultos, foi demonstrada hipometilação do gene *GADI* (glutamato descarboxilase 1) e do gene da *MAOA*, e adultos com TAS exibiram hipometilação do gene *OXTR* (receptor de ocitocina). Estes e outros estudos apontam para diferenças na metilação do DNA em

distúrbios de ansiedade específicos, as quais podem servir como biomarcadores ou alvos terapêuticos (DOMSCHKE et al., 2012, 2013; NIETO et al., 2016).

2.5 Novas abordagens: o envelhecimento celular nos Transtornos de Ansiedade

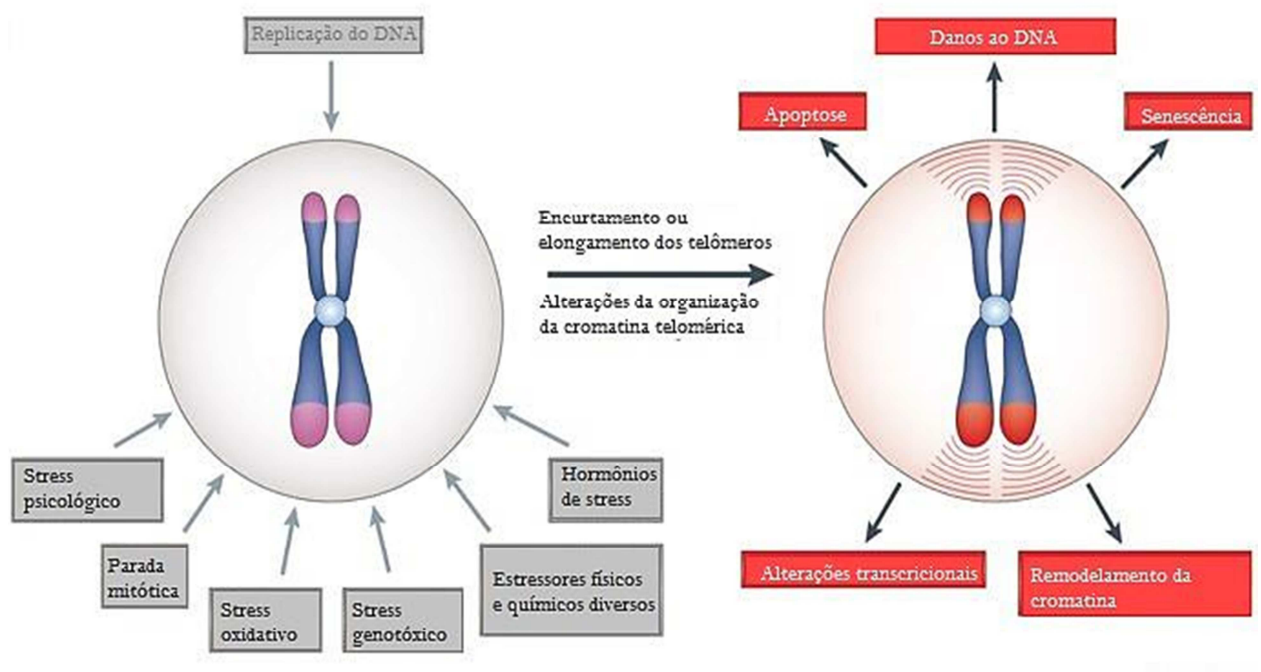
O envelhecimento acelerado é comumente observado em várias doenças crônicas (BARTON; HUSMANN; MEYER, 2016; FRIES et al., 2017; KUWANO et al., 2016). Há algumas décadas, pesquisas buscando compreender o envelhecimento tem sugerido a identificação de biomarcadores que poderiam prever com precisão a capacidade funcional de uma pessoa ou órgão e como ela muda com a idade, ou seja, marcadores de idade biológica. Esses marcadores seriam mais eficientes que a idade cronológica, que é uma medida substituta imperfeita do processo de envelhecimento (HORVATH, 2013a).

O envelhecimento pode ser considerado um construto multidimensional, incluindo mudanças físicas, psicossociais e biológicas. O estudo dos mecanismos moleculares envolvidos no declínio biológico relacionado à idade em populações vem sendo investigado através de “relógios biológicos” relevantes, entre os quais podemos destacar o comprimento de telômero (CT) e a idade de metilação do DNA (idade de DNAm) (FRIES et al., 2017).

2.5.1 Encurtamento de telômeros nos TAs

Nas últimas décadas, vários estudos deram suporte para uma associação entre a história de *stress* na infância e menor comprimento de telômero (CT) (SHALEV, 2013). Telômeros são sequências TTAGGG repetitivas, que “encapam” e protegem as extremidades dos cromossomos, desempenhando um papel importante na regulação da replicação celular, e reduzindo-os progressivamente a cada divisão celular (MOFFITT; THE KLAUS-GRAWE 2012 THINK TANK, 2013). Além da erosão replicativa, a estrutura dos telômeros é sensível a uma ampla gama de fatores endógenos e ambientais, como a progressão inadequada do ciclo celular por mitose, *stress* oxidativo, *stress* genotóxico, álcool, hormônios do *stress* e *stress* psicológico (Fig. 4) (YE et al., 2014).

Figura 4 - Organização e sinalização de telômeros.



Os telômeros podem ser vistos como antenas receptoras ou transmissoras que podem integrar uma ampla gama de sinais endógenos e exógenos (caixas cinzas), modificando seu comprimento e / ou estrutura da cromatina, o que leva a mudanças no destino da célula (caixas vermelhas). Adaptado de YE et al., 2014.

Novos estudos tem associado CT mais curto a diversos fatores de risco que predizem a morbidade de doenças como tabagismo, obesidade, esquizofrenia, transtornos de humor e *stress* psicossocial (BUXTON et al., 2011; KIECOLT-GLASER et al., 2011). Indivíduos adultos que relataram abuso físico, negligência emocional, ou outros eventos adversos durante a infância, apresentaram CT significativamente mais curto, independente de potenciais confundidores, tais como idade, sexo ou presença de tabagismo (DONOVAN et al., 2012; KANANEN et al., 2010; KIECOLT-GLASER et al., 2011). Em um estudo longitudinal, crianças que sofreram dois ou mais tipos de exposição à violência mostraram significativamente mais erosão dos telômeros entre as medidas basais realizadas aos cinco anos e reavaliadas no seguimento, aos 10 anos de idade (SHALEV et al., 2013). Além disso, o grau de encurtamento dos telômeros está envolvido com a regulação genética, o controle da transcrição, modificações epigenéticas e alterações imunológicas associadas ao *stress* infantil (BENETTI; GARCÍA-CAO; BLASCO, 2007; KIECOLT-GLASER et al., 2011; SHALEV et al., 2013; SHALEV, 2013).

CT é considerado um “relógio biológico”, mas a literatura tem mostrado resultados conflitantes ao avaliar a relação entre o CT leucocitário como marcador de envelhecimento biológico e transtornos psiquiátricos (DARROW et al., 2016). Embora a erosão telomérica esteja associada à vulnerabilidade a TAs, estudos prospectivos testando a hipótese de que a ansiedade precede o encurtamento de telômeros proporcionam resultados inconsistentes (HOEN et al., 2013; RAMIN et al., 2015; VERHOEVEN et al., 2015). Apesar dessas inconsistências, uma meta-análise recente mostrou um tamanho de efeito moderado (-0,53) para os TAs no encurtamento de telômeros em adultos (DARROW et al., 2016). Entretanto, poucos estudos tem buscado associações entre CT e TAs em crianças e adolescentes, ou mesmo em adultos jovens.

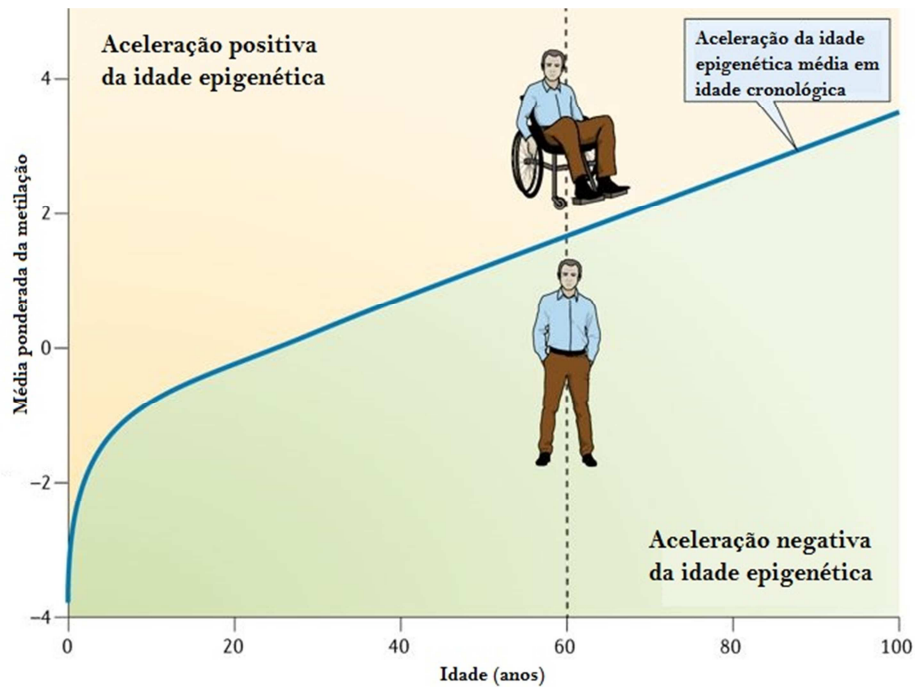
2.5.2 Aceleração da idade epigenética nos TAs

Evidências recentes de estudos em humanos e modelos animais sugerem que os biomarcadores baseados na metilação do DNA (DNAm) constituiriam bons biomarcadores moleculares do envelhecimento, se aplicando a todas as fontes de DNA (células, tecidos e órgãos separados) e a todo o espectro etário (de tecido pré-natal a tecidos de centenários) (HORVATH, 2013b). As análises de metilação global do genoma tem servido de instrumento para uma estimativa da aceleração da idade epigenética, isto é, da discrepância entre a idade de metilação do DNA (DNAm) e a idade cronológica (CHEN et al., 2016; HANNUM et al., 2014) (Fig. 5). Um método descrito descrito por HORVATH, 2013 combina os níveis de DNAm em 353 locais genômicos, gerando uma estimativa da idade biológica consistente na maioria dos tipos de células e tecidos (HORVATH, 2013b; MCKINNEY et al., 2018).

É importante salientar que a idade epigenética pode ser dinamicamente modulada, sendo influenciada por fatores de estilo de vida e acelerada com os efeitos cumulativos de estressores (QUACH et al., 2017; ZANNAS et al., 2015). A aceleração da idade biológica (ou seja, idade de DNAm maior que a idade cronológica) está associada a maior risco de mortalidade (CHEN et al., 2016; MARIONI et al., 2015). Em psiquiatria, ainda são poucos os estudos explorando a idade epigenética como relógio biológico e biomarcador em potencial. Estudos em transtorno de *stress* pós-traumático, esquizofrenia, depressão e transtorno bipolar apresentam achados contraditórios (FRIES et al., 2017; HAN et al., 2018; MCKINNEY et al., 2018; VOISEY et al., 2017; WOLF et al., 2017, 2018). FRIES et al., 2017 detectou, em transtorno bipolar, envelhecimento epigenético significativamente acelerado em comparação com os controles apenas em pacientes mais velhos (33 anos a 49 anos), enquanto nenhuma diferença foi detectada entre os indivíduos mais jovens (24 a 33 anos), sugerindo que o

envelhecimento celular poderia ser menos relevante ou impactante em jovens. A investigação da idade epigenética nos TAs ainda não foi explorada, denotando a importância de estudos desse marcador de envelhecimento celular nessas patologias.

Figura 5. Aceleração da idade baseada na metilação do DNA em vários tecidos.



A linha azul sólida mostra como uma versão não calibrada da estimativa de idade com base em metilação de DNA de múltiplos tecidos (DNAm), média ponderada de 353 CpGs, muda com a idade. A taxa é muito rápida no primeiro ano de vida, após o que diminui gradualmente de forma não linear até cerca de 20 anos de idade. A partir de então, ela se estabiliza em uma taxa constante mais lenta. Indivíduos acima da linha exibem aceleração da idade epigenética e são mais velhos do que seus pares na mesma idade cronológica. Por outro lado, os indivíduos abaixo da linha exibem aceleração de idade epigenética negativa e são mais jovens do que seus pares na mesma idade cronológica. Adaptado de HORVATH; RAJ, 2018.

3 JUSTIFICATIVA

Durante a adolescência, a poda sináptica e a mielinização aumentam a fim de refinar a conectividade funcional no hipocampo, amígdala e córtex pré-frontal. Este processo dinâmico contribui para mudanças no desenvolvimento dos padrões de ativação encefálica (Dinel et al., 2014). Sabe-se que os TAs em jovens têm impacto negativo em vários aspectos ao longo da vida dos pacientes, podendo ter curso crônico e grave e associar-se ao aumento das taxas de ansiedade e depressão na vida adulta. Assim, investigar as diferentes trajetórias desses transtornos e sua possível associação com o envelhecimento celular torna-se de fundamental importância. Da mesma forma, o estudo das complexas interações entre os genes e o ambiente pode auxiliar na compreensão dos mecanismos envolvidos no desenvolvimento dos TAs.

A busca por possíveis biomarcadores com alto valor preditivo para melhor compreender o desenvolvimento e evolução dos TAs, bem como para incluir seu uso no procedimento padrão de diagnóstico e intervenções preventivas (Cuthbert e Insel, 2013), vem tomando espaço crescente nas pesquisas recentes. Nesse sentido, potenciais biomarcadores como componentes do sistema imunológico e de inflamação, bem como marcadores de envelhecimento celular, são de peculiar interesse. A compreensão de como a neuroinflamação e o envelhecimento celular acelerado estão envolvidos no início e progressão dessas doenças também tem sido buscada, podendo ser crucial para o desenvolvimento de novas estratégias de tratamento.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo Geral

Investigar a associação de alterações imunológicas e de envelhecimento celular com o curso dos transtornos de ansiedade (TAs), avaliando a trajetória desenvolvimental de crianças e adolescentes com TAs.

4.2 Objetivos Específicos

- a. Avaliar o papel dos TAs como preditores de alterações imunológicas e oxidativas, a partir da avaliação de interleucinas pró- e anti-inflamatórias (IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-12, TNF- α , BDNF) e do stress oxidativo (carbonilação das proteínas), em adolescentes e jovens adultos (artigo #1);
- b. Investigar um possível papel mediador nas associações acima descritas de fatores metabólicos (glicemia, insulina, diabetes, colesterol total, HDL e LDL, triglicerídeos), atividade física e presença de trauma na infância (abuso sexual, físico ou emocional, negligência física ou emocional) (artigo #1);
- c. Caracterizar o envelhecimento celular, através da avaliação do encurtamento do comprimento dos telômeros e da aceleração da idade epigenética a partir da metilação do genoma inteiro, em adolescentes e jovens adultos (artigo #2);
- d. Investigar a relação de diferentes trajetórias dos TAs (persistente, remitente, incidente) em relação a indivíduos sem o transtorno, com os processos de envelhecimento celular (artigo #2).

5 ARTIGO #1

Aceito para publicação no *Journal of Psychiatric Research*.

Fator de Impacto (2017): 4,000

Ref: JPSYCHIATRRES_2019_227_R1

7 DISCUSSÃO E CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho teve como objetivo avaliar a trajetória desenvolvimental de crianças e adolescentes com transtornos de ansiedade (TAs), investigando a associação de alterações imunológicas e de envelhecimento celular com o curso do transtorno. A partir dos dados apresentados, os principais achados desta tese são:

#1: Nosso trabalho demonstrou que a presença de TAs pode prever inflamação no futuro. O diagnóstico de TAs na infância predisse significativamente níveis mais altos de IL-6 após 5 anos de follow up. A associação aqui encontrada foi parcialmente mediada por níveis mais elevados de HDL-colesterol. Além disso, os TAs também predisseram níveis mais baixos de BDNF após 5 anos, não tendo sido encontrados mediadores significativos para tal associação.

#2: Nosso estudo mostrou, através de dois marcadores diferentes de envelhecimento celular, que não há uma relação consistente entre ansiedade e envelhecimento na adolescência. Embora os pacientes com trajetórias incidente e remittente tenham apresentado acelerada taxa de erosão telomérica, pacientes ansiosos crônicos e controles saudáveis não reduziram significativamente o comprimento dos telômeros (CT). Além disso, não foram observadas diferenças significativas entre as trajetórias em termos de aceleração da idade epigenética. Também não pudemos demonstrar correlações significativas entre a idade de metilação do DNA (DNAm) e CT.

Os avanços no estudo de biomarcadores e da área de psiquiatria molecular tem contribuído crescentemente para a compreensão da etiologia dos transtornos mentais. A investigação de mecanismos biológicos subjacentes ao desenvolvimento dos TAs pode auxiliar no diagnóstico, prognóstico e tratamento desses transtornos. Em geral, o sofrimento psíquico, especialmente quando experimentado no início da vida, está associado a uma inflamação cronicamente alta (LOPEZ; DENNY; FAGUNDES, 2018). Da mesma forma, adversidade na infância tem sido associada com CT mais curto (PRICE et al., 2014) e idade da DNAm acelerada (FIORITO et al., 2017). Nesse sentido, focamos nosso estudo na investigação acerca da inflamação e do envelhecimento celular acelerado em adolescentes, a fim de avaliar esses marcadores no início e progressão dos TAs.

Nossos achados associando marcadores inflamatórios como preditores dos TAs na adolescência são consistentes com achados meta-analíticos que relataram uma diferença global significativa nos níveis de IL-6 entre controles saudáveis e indivíduos com TAs ($P < 0,001$, g de Hedge = -0,93) (RENNAN et al., 2018). Sabe-se que a IL-6 produzida

periféricamente pode atravessar ou enviar sinais pró-inflamatórios através da barreira hematoencefálica (MAIER, 2003; QUAGLIATO; NARDI, 2018) e alterar a atividade da amígdala, aumentando o comportamento semelhante à ansiedade (ENGLER et al., 2011; QUAGLIATO; NARDI, 2018). Da mesma forma, nossos resultados mostrando que a ansiedade pode prever níveis diminuídos de BDNF são condizentes com dados da literatura mostrando baixos níveis de BDNF associados a esquizofrenia, transtorno depressivo maior, transtorno bipolar e transtornos de ansiedade (GALVEZ-CONTRERAS et al., 2016; LEE; KIM, 2010; POLYAKOVA et al., 2015). O BDNF está envolvido em comportamentos semelhantes à ansiedade em modelos pré-clínicos, e diversos estressores reduziram sua expressão em diferentes áreas do cérebro (DALLE MOLLE et al., 2012; MOREIRA et al., 2015).

Nossas análises de mediação no estudo #1 sobre marcadores inflamatórios não identificaram mediadores significativos para a associação entre TAs e BDNF, e um único mediador metabólico na associação entre TAs e IL-6. Este, o colesterol HDL, é um forte antioxidante, e baixos níveis estão associados ao aumento do estresse oxidativo e respostas pró-inflamatórias (GANJALI et al., 2018), bem como a níveis elevados de IL-6 e baixos níveis de HDL em homens (DICH et al., 2015).

De um modo geral, podemos afirmar que conseguimos demonstrar uma importante influência direta dos TAs na inflamação, representada aqui por níveis mais altos de IL-6 e níveis mais baixos de BDNF. Desequilíbrios nas concentrações sistêmicas de citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias têm sido implicados na etiologia e sintomatologia dos TAs (BELEM DA SILVA et al., 2016; HOU et al., 2017; OGŁODEK et al., 2015; WOHLEB; GODBOUT, 2013). Vale ressaltar que a inflamação está envolvida em uma série de problemas graves de saúde, como doença arterial coronariana, câncer, dor crônica e depressão (LOUATI; BERENBAUM, 2015; MARSLAND et al., 2018; MILLER; RAISON, 2017). Assim, a inflamação pode ser o elo entre a adversidade psicossocial e os desfechos de saúde observados nos TAs (MARSLAND et al., 2018; STEPTOE et al., 2018). O estudo dos biomarcadores inflamatórios em pacientes com TAs pode, portanto, melhorar nossa compreensão sobre o impacto dos processos inflamatórios em sua saúde geral, particularmente nos desfechos cardiovasculares.

Nosso estudo sobre envelhecimento celular mostrou, através de dois marcadores diferentes, que não há uma relação consistente entre ansiedade e envelhecimento celular na adolescência. Em nossa amostra, os telômeros reduziram significativamente apenas em grupos de remitentes e incidentes. No grupo de incidentes, essa diferença poderia ser

parcialmente explicada por um CT inicial significativamente maior, que pode ser devido a fatores genéticos, uma vez que o CT é amplamente determinada geneticamente (herdabilidade estimada em cerca de 0,70) (BROER et al., 2013). Ao contrário de nossa hipótese definida a priori, o CT do grupo persistente não encurtou significativamente, e isso não foi associado ao uso de medicação com efeito protetor ou alongador de telômeros, como o lítio (MARTINSSON et al., 2013), pois nenhum dos participantes da nossa amostra fazia uso de qualquer medicação psiquiátrica.

Em nosso estudo, também não encontramos quaisquer correlações entre CT e idade da metilação do DNA, em conformidade com outros estudos que sugerem que a idade de DNAm e CT não são correlacionadas e prevêm a idade cronológica independentemente (BREITLING et al., 2016; FRIES et al., 2017; MARIONI et al., 2016). Além disso, não encontramos diferença significativa na idade de DNAm entre as diferentes trajetórias de TAs, sugerindo que talvez a idade epigenética não seja um bom marcador de envelhecimento em jovens.

Nossa pesquisa tem focado em infância e adolescência, trazendo uma série de novas informações preliminares sobre o curso dos transtornos de ansiedade em jovens. Para nosso conhecimento, este é o primeiro trabalho investigando o envelhecimento epigenético em TAs, bem como o primeiro estudo longitudinal em adolescentes investigando a associação entre dois relógios biológicos diferentes e diferentes trajetórias dos TAs. É ainda um estudo pioneiro em adolescentes avaliando longitudinalmente a influência dos TAs sobre inflamação e estresse oxidativo. Dessa forma, nossa contribuição torna-se bastante relevante ao estudo dos biomarcadores em ansiedade.

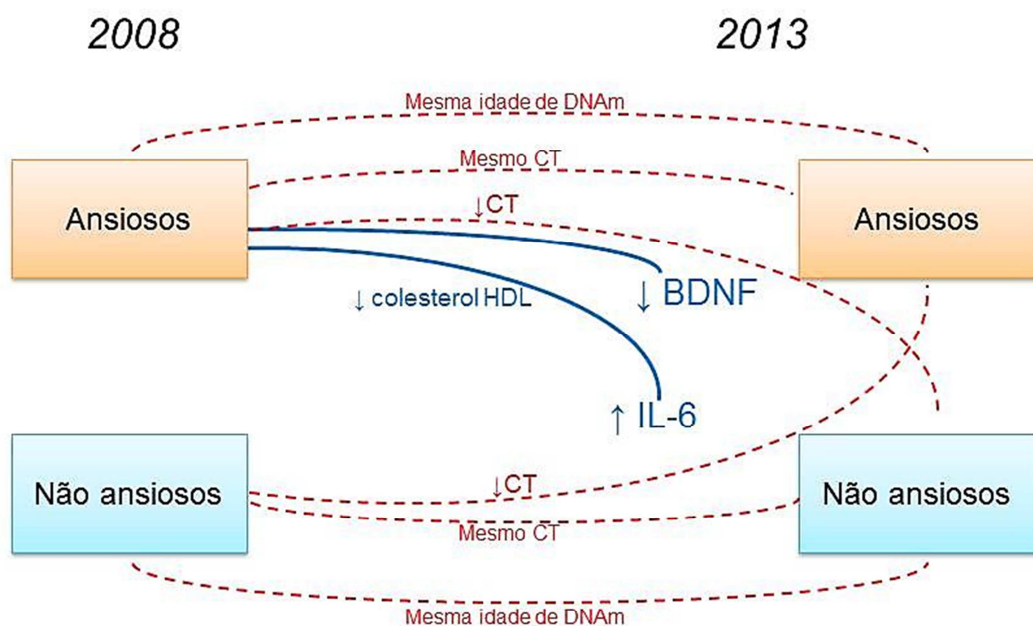
Algumas limitações desta pesquisa incluem o pequeno tamanho da amostra, que pode ter limitado nosso poder de detectar associações de tamanhos de efeito pequenos a médios. Em nosso estudo #1, os biomarcadores séricos não puderam ser avaliados no baseline, o que poderia limitar um pouco nossas inferências longitudinais. Certamente, novos estudos que avaliem longitudinalmente esses biomarcadores em TAs são necessários para melhor esclarecer essa relação. Nosso estudo #2 usou amostras de DNA de saliva para a quantificação de telômeros e avaliação da idade epigenética, entretanto a metilação do DNA na saliva parece ser mais semelhante às regiões do cérebro do que a metilação no sangue (SMITH et al., 2015).

Em resumo, nossos resultados apontam para os marcadores inflamatórios IL-6 e BDNF como potenciais biomarcadores para os TAs na adolescência, e sugerem que o comprimento de telômeros e a idade de metilação do DNA talvez não sejam os melhores

marcadores de envelhecimento celular em ansiedade nessa faixa etária. Talvez o envelhecimento celular seja mais importante a partir da idade adulta nesses transtornos, ou sejam necessários outros marcadores de envelhecimento para identificar potenciais alterações em TAs na adolescência. Por outro lado, os fenômenos inflamatórios parecem ocorrer no contexto de transtornos psiquiátricos na infância e adolescência, sugerindo que novos estudos possam avaliar como essas associações podem afetar a morbidade da ansiedade.

A figura 6 resume os principais achados dessa tese:

Figura 6 - Biomarcadores imunológicos e de envelhecimento celular em adolescentes com transtornos de ansiedade.



CT: Comprimento de telômeros; DNAm: metilação do DNA; IL-6: Interleucina6; BDNF: Fator neurotrófico derivado do encéfalo; HDL: lipoproteína de alta densidade.

8 PERSPECTIVAS

O presente trabalho deixa uma série de questões a serem analisadas mais profundamente e complementadas. Nós pretendemos incluir marcadores de inflamação e estresse oxidativo em algumas de nossas pesquisas de forma longitudinal, para dessa forma compreendermos melhor a associação encontrada neste estudo. A partir destes dados, poderemos ter uma ideia mais completa sobre o papel da neuroinflamação nos TAs.

Também pretendemos aprofundar nossos estudos em bioinformática, com o objetivo de explorar os dados gerados pelo metiloma do DNA em nossa amostra de adolescentes. A partir dos dados gerados, pretendemos buscar compreender melhor o papel do envelhecimento celular no curso dos TAs. Nossa ideia inicial é estudar a metilação em regiões regulatórias e genes de interesse, tais como o gene da telomerase e outros envolvidos na regulação telomérica e em mecanismos epigenéticos. Além disso, o banco de dados gerado no estudo do PROTAIA é bastante rico e extenso e deverá ser explorado de forma dinâmica visando complementar nossos estudos.

Finalmente, a ideia de constituir um biobanco integrado de amostras dos estudos em psiquiatria será proposta, com o objetivo de organizar e dinamizar a busca por mecanismos biológicos envolvidos na etiologia dos transtornos psiquiátricos, bem como a procura por biomarcadores que auxiliem no diagnóstico, prognóstico e tratamento dos TAs e demais transtornos psiquiátricos.

9 DIVULGAÇÃO PARCIAL DOS RESULTADOS

Angelica de Baumont; Andressa Bortoluzzi; Patrícia Lavandoski; Lucas K. Grun; Bianca Wollenhaupt de Aguiar; Luciano S. P. Guimarães; Giovanni Abrahão Salum; Florencia M. Barbé-Tuana; Gisele Gus Manfro. *Comprimento de telômeros em adolescentes com diferentes trajetórias de transtornos de ansiedade: um estudo longitudinal ao longo de 5 anos*. Trabalho selecionado para a Sessão de Apresentações Orais da 38ª Semana Científica do HCPA. 23 de outubro de 2018, Porto Alegre, RS, Brasil.

REFERÊNCIAS

- ASK, Helga et al. Common Etiological Sources of Anxiety, Depression, and Somatic Complaints in Adolescents: A Multiple Rater twin Study. **Journal of Abnormal Child Psychology**, [s. l.], v. 44, n. 1, p. 101–114, 2016.
- ASMUNDSON, Gordon J. G.; TAYLOR, Steven; SMITS, Jasper A. J. Panic disorder and agoraphobia: an overview and commentary on DSM-5 changes. **Depression and anxiety**, [s. l.], v. 31, n. 6, p. 480–6, 2014. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24865357>>
- ASSELMANN, Eva; BEESDO-BAUM, Katja. **Predictors of the Course of Anxiety Disorders in Adolescents and Young Adults** *Current Psychiatry Reports*, 2015.
- BARRÈS, Romain; ZIERATH, Juleen R. The role of diet and exercise in the transgenerational epigenetic landscape of T2DM. **Nature Reviews Endocrinology**, [s. l.], v. 12, n. 8, p. 441–451, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/nrendo.2016.87>>
- BARTON, Matthias; HUSMANN, Marc; MEYER, Matthias R. Accelerated Vascular Aging as a Paradigm for Hypertensive Vascular Disease: Prevention and Therapy. **Canadian Journal of Cardiology**, [s. l.], v. 32, n. 5, p. 680–686, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cjca.2016.02.062>>
- BATTAGLIA, Marco. Separation anxiety: At the neurobiological crossroads of adaptation and illness. **Dialogues in Clinical Neuroscience**, [s. l.], v. 17, n. 3, p. 277–285, 2015.
- BECHTER, K. et al. Cerebrospinal fluid analysis in affective and schizophrenic spectrum disorders: Identification of subgroups with immune responses and blood-CSF barrier dysfunction. **Journal of Psychiatric Research**, [s. l.], v. 44, n. 5, p. 321–330, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jpsychires.2009.08.008>>
- BEESDO-BAUM, K. et al. The natural course of social anxiety disorder among adolescents and young adults. **Acta Psychiatrica Scandinavica**, [s. l.], v. 126, n. 6, p. 411–425, 2012.
- BEESDO, Katja; KNAPPE, Susanne; PINE, Daniel S. Anxiety and anxiety disorders in children and adolescents: Developmental issues and implications for DSM-V. **Psychiatric Clinics of North America**, [s. l.], v. 32, n. 3, p. 483–524, 2011.
- BELEM DA SILVA, Cristiano Tschiedel et al. Cytokine Levels in Panic Disorder. **Psychosomatic Medicine**, [s. l.], p. 1, 2016. Disponível em: <<http://content.wkhealth.com/linkback/openurl?sid=WKPTLP:landingpage&an=00006842-900000000-98911>>
- BENETTI, Roberta; GARCÍA-CAO, Marta; BLASCO, María A. Telomere length regulates the epigenetic status of mammalian telomeres and subtelomeres. **Nature Genetics**, [s. l.], v. 39, n. 2, p. 243–250, 2007.
- BOEHME, Stephanie et al. Brain activation during anticipatory anxiety in social anxiety disorder. **Social Cognitive and Affective Neuroscience**, [s. l.], v. 9, n. 9, p. 1413–1418, 2014.
- BOUAYED, Jaouad; RAMMAL, Hassan; SOULIMANI, Rachid. Oxidative stress and anxiety: Relationship and cellular pathways A Link Between Oxidative Stress Metabolic

Pathways and Anxiety-Related Phenotypes. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, [s. l.], v. 2, n. 2, p. 63–67, 2009.

BREITLING, Lutz Philipp et al. Frailty is associated with the epigenetic clock but not with telomere length in a German cohort. **Clinical Epigenetics**, [s. l.], v. 8, n. 1, p. 1–8, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1186/s13148-016-0186-5>>

BROER, Linda et al. Meta-analysis of telomere length in 19 713 subjects reveals high heritability, stronger maternal inheritance and a paternal age effect. **European Journal of Human Genetics**, [s. l.], v. 21, n. 10, p. 1163–1168, 2013.

BRUCE, Steven E. et al. Influence of Psychiatric Comorbidity on Recovery and Recurrence in Generalized Anxiety Disorder, Social Phobia, and Panic Disorder: A 12-Year Prospective Study. **American Journal of Psychiatry**, [s. l.], v. 162, n. 6, p. 1179–1187, 2005. Disponível em: <<http://psychiatryonline.org/doi/abs/10.1176/appi.ajp.162.6.1179>>

BUXTON, Jessica L. et al. Childhood obesity is associated with shorter leukocyte telomere length. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, [s. l.], v. 96, n. 5, p. 1500–1505, 2011.

CHEN, Brian H. et al. DNA methylation-based measures of biological age: Meta-analysis predicting time to death. **Aging**, [s. l.], v. 8, n. 9, p. 1844–1865, 2016.

COPELAND, William E. et al. Diagnostic transitions from childhood to adolescence to early adulthood. **Journal of Child Psychology and Psychiatry and Allied Disciplines**, [s. l.], v. 54, n. 7, p. 791–799, 2013.

CRASKE, Michelle G. et al. Anxiety disorders. **Nature Reviews Disease Primers**, [s. l.], v. 3, 2017.

CRESWELL, Cathy; WAITE, Polly; COOPER, Peter J. Assessment and management of anxiety disorders in children and adolescents. **Archives of Disease in Childhood**, [s. l.], v. 99, n. 7, p. 674–678, 2014.

DALLE MOLLE, R. et al. Associations between parenting behavior and anxiety in a rodent model and a clinical sample: Relationship to peripheral BDNF levels. **Translational Psychiatry**, [s. l.], v. 2, n. 11, p. e195-8, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/tp.2012.126>>

DARROW, Sabrina M. et al. **The Association between Psychiatric Disorders and Telomere Length: A Meta-Analysis Involving 14,827 Persons** *Psychosomatic Medicine*, 2016.

DICH, Nadya et al. Early life adversity potentiates the effects of later life stress on cumulative physiological dysregulation. **Anxiety, Stress and Coping**, [s. l.], v. 28, n. 4, p. 372–390, 2015.

DOMSCHKE, Katharina et al. Monoamine oxidase A gene DNA hypomethylation – a risk factor for panic disorder? [s. l.], v. 15, p. 1217–1228, 2012.

DOMSCHKE, Katharina et al. Epigenetic signature of panic disorder: A role of glutamate decarboxylase 1 (GAD1) DNA hypomethylation? **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, [s. l.], v. 46, p. 189–196, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.pnpbp.2013.07.014>>

- DONOVAN, Aoife O. et al. Childhood Trauma Associated With Short Leukocyte Telomere Length in Post-Traumatic Stress Disorder. [s. l.], v. 70, n. 5, p. 465–471, 2012.
- DUIVIS, Hester E. et al. Differential association of somatic and cognitive symptoms of depression and anxiety with inflammation: Findings from the netherlands study of depression and anxiety (NESDA). **Psychoneuroendocrinology**, [s. l.], v. 38, n. 9, p. 1573–1585, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.psyneuen.2013.01.002>>
- DUVAL, Elizabeth R.; JAVANBAKHT, Arash; LIBERZON, Israel. Neural circuits in anxiety and stress disorders: A focused review. **Therapeutics and Clinical Risk Management**, [s. l.], v. 11, p. 115–126, 2015.
- ENGLER, Harald et al. Acute amygdaloid response to systemic inflammation. **Brain, Behavior, and Immunity**, [s. l.], v. 25, n. 7, p. 1384–1392, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bbi.2011.04.005>>
- ERCAN, A. Cenk et al. Oxidative status and prolidase activities in generalized anxiety disorder. **Asian Journal of Psychiatry**, [s. l.], v. 25, p. 118–122, 2017.
- ESSAU, Cecilia A.; CONRADT, Judith. Psychosocial Impairment of Anxiety Disorders in German Adolescents. **Journal of Anxiety Disorders**, [s. l.], v. 14, n. 3, p. 263–279, 2000.
- EZPELETA, Lourdes et al. Epidemiology of psychiatric disability in childhood and adolescence. **Journal of Child Psychology and Psychiatry and Allied Disciplines**, [s. l.], v. 42, n. 7, p. 901–914, 2001.
- FIORITO, Giovanni et al. Social adversity and epigenetic aging: A multi-cohort study on socioeconomic differences in peripheral blood DNA methylation. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 7, n. 1, p. 1–12, 2017.
- FLEITLICH-BILYK, Bacy; GOODMAN, Robert. Prevalence of child and adolescent psychiatric disorders in Southeast Brazil. **Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry**, [s. l.], v. 43, n. 6, p. 727–734, 2004. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1097/01.chi.0000120021.14101.ca>>
- FRIES, Gabriel R. et al. Accelerated epigenetic aging and mitochondrial DNA copy number in bipolar disorder. **Translational Psychiatry**, [s. l.], v. 7, n. 12, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/s41398-017-0048-8>>
- GALVEZ-CONTRERAS, Alma Y. et al. Growth factors as clinical biomarkers of prognosis and diagnosis in psychiatric disorders. **Cytokine and Growth Factor Reviews**, [s. l.], v. 32, p. 85–96, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cytogfr.2016.08.004>>
- GANJALI, Shiva et al. Monocyte-to-HDL-cholesterol ratio as a prognostic marker in cardiovascular diseases. **Journal of Cellular Physiology**, [s. l.], n. June, p. 1–10, 2018. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30076716>><<http://doi.wiley.com/10.1002/jcp.27028>>
- GREEN, Jennifer Greif et al. DSM-IV Disorders in the National Comorbidity Survey Replication Adolescent Supplement. [s. l.], v. 69, n. 4, p. 372–380, 2013.
- HAN, Laura K. M. et al. Epigenetic aging in major depressive disorder. **American Journal of Psychiatry**, [s. l.], v. 175, n. 8, p. 774–782, 2018.

HANNUM, Gregory et al. Genome-wide Methylation Profiles Reveal Quantitative Views of Human Aging Rates. **Mol Cell**, [s. l.], v. 49, n. 2, p. 359–367, 2014.

HILBERT, Kevin; LUEKEN, Ulrike; BEESDO-BAUM, Katja. Neural structures, functioning and connectivity in Generalized Anxiety Disorder and interaction with neuroendocrine systems: A systematic review. **Journal of Affective Disorders**, [s. l.], v. 158, p. 114–126, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jad.2014.01.022>>

HINWOOD, M. et al. Evidence that microglia mediate the neurobiological effects of chronic psychological stress on the medial prefrontal cortex. **Cerebral Cortex**, [s. l.], v. 22, n. 6, p. 1442–1454, 2012.

HOEN, P. W. et al. Association between anxiety but not depressive disorders and leukocyte telomere length after 2 years of follow-up in a population-based sample. **Psychological Medicine**, [s. l.], v. 43, n. 04, p. 689–697, 2013. Disponível em: <http://www.journals.cambridge.org/abstract_S0033291712001766>

HORVATH, Steve. DNA methylation age of human tissues and cell types. **Genome Biology**, [s. l.], v. 14, n. 10, 2013. a.

HORVATH, Steve. DNA methylation age of human tissues and cell types. **Genome Biol**, [s. l.], v. 14, n. 10, p. R115, 2013. b. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4015143&tool=pmcentrez&rendertype=abstract%5Cnhttp://genomebiology.com/2013/14/10/R115>>

HORVATH, Steve; RAJ, Kenneth. DNA methylation-based biomarkers and the epigenetic clock theory of ageing. **Nature Reviews Genetics**, [s. l.], 2018. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/s41576-018-0004-3>>

HOU, Ruihua et al. Peripheral inflammatory cytokines and immune balance in Generalised Anxiety Disorder: Case-controlled study. **Brain, Behavior, and Immunity**, [s. l.], v. 62, n. 0, p. 212–218, 2017.

JARROS, Rafaela Behs et al. Anxiety disorders in adolescence are associated with impaired facial expression recognition to negative valence. **Journal of Psychiatric Research**, [s. l.], v. 46, n. 2, p. 147–151, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jpsychires.2011.09.023>>

KANANEN, Laura et al. Childhood adversities are associated with shorter telomere length at adult age both in individuals with an anxiety disorder and controls. **PLoS ONE**, [s. l.], v. 5, n. 5, p. 1–7, 2010.

KENDLER, KS et al. The structure of genetic and environmental risk factors for syndromal and subsyndromal common DSM-IV axis I and all axis II disorders. [s. l.], v. 168, n. 1, p. 29–39, 2011.

KESSLER, Ronald C. et al. Prevalence, persistence, and sociodemographic correlates of DSM-IV disorders in the National Comorbidity Survey Replication Adolescent Supplement. **Archives of General Psychiatry**, [s. l.], v. 69, n. 4, p. 372–380, 2012.

KIECOLT-GLASER, Janice K. et al. Childhood adversity heightens the impact of later-life caregiving stress on telomere length and inflammation. **Psychosomatic Medicine**, [s. l.], v. 73, n. 1, p. 16–22, 2011.

KUWANO, Kazuyoshi et al. Cellular senescence and autophagy in the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and idiopathic pulmonary fibrosis (IPF). **Respiratory Investigation**, [s. l.], v. 54, n. 6, p. 397–406, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.resinv.2016.03.010>>

LEE, Bun Hee; KIM, Yong Ku. The roles of BDNF in the pathophysiology of major depression and in antidepressant treatment. **Psychiatry Investigation**, [s. l.], v. 7, n. 4, p. 231–235, 2010.

LOPEZ, Richard B.; DENNY, Bryan T.; FAGUNDES, Christopher P. Neural mechanisms of emotion regulation and their role in endocrine and immune functioning: A review with implications for treatment of affective disorders. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, [s. l.], v. 95, p. 508–514, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2018.10.019>>

LOUATI, Karine; BERENBAUM, Francis. Fatigue in chronic inflammation - a link to pain pathways. **Arthritis Research and Therapy**, [s. l.], v. 17, n. 1, p. 1–10, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1186/s13075-015-0784-1>>

LURIE, Diana I. An integrative approach to neuroinflammation in psychiatric disorders and neuropathic pain. **Journal of Experimental Neuroscience**, [s. l.], v. 12, p. 1–11, 2018.

MAIER, Steven F. Bi-directional immune-brain communication: Implications for understanding stress, pain, and cognition. **Brain, Behavior, and Immunity**, [s. l.], v. 17, n. 2, p. 69–85, 2003.

MACHADO-DE-SOUSA, João Paulo et al. Increased amygdalar and hippocampal volumes in young adults with social anxiety. **PLoS ONE**, [s. l.], v. 9, n. 2, p. 1–5, 2014.

MARIONI, Riccardo E. et al. DNA methylation age of blood predicts all-cause mortality in later life. **Genome Biology**, [s. l.], v. 16, n. 1, p. 1–12, 2015.

MARIONI, Riccardo E. et al. The epigenetic clock and telomere length are independently associated with chronological age and mortality. **International Journal of Epidemiology**, [s. l.], v. 45, n. 2, p. 424–432, 2016.

MARSLAND, Anna L. et al. The effects of acute psychological stress on circulating and stimulated inflammatory markers: A systematic review and meta-analysis. **Brain Behav Immun.**, [s. l.], v. 64, n. 412, p. 208–219, 2018.

MARTINSSON, L. et al. Long-term lithium treatment in bipolar disorder is associated with longer leukocyte telomeres. **Translational Psychiatry**, [s. l.], v. 3, n. 4, p. 313–318, 2013.

MAZE, I; NESTER, EJ. The epigenetic landscape of addiction. **Ann N Y Acad Sci.**, [s. l.], v. 1216, p. 99–113, 2011.

MCKINNEY, Brandon C. et al. DNA methylation age is not accelerated in brain or blood of subjects with schizophrenia. **Schizophrenia Research**, [s. l.], v. 196, p. 39–44, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.schres.2017.09.025>>

MILLER, A. H.; RAISON, C. L. Imperative To Modern Treatment Target. **Nat Rev Immunol**, [s. l.], v. 16, n. 1, p. 22–34, 2017.

MOFFITT, Terrie E.; THE KLAUS-GRAWE 2012 THINK TANK. Childhood exposure to

violence and lifelong health: Clinical intervention science and stress biology research join forces. [s. l.], v. 25, n. 402, p. 1–27, 2013.

MOONS, Wesley G.; SHIELDS, Grant S. Anxiety, not anger, induces inflammatory activity: An avoidance/approach model of immune system activation. **Emotion**, [s. l.], v. 15, n. 4, p. 463–476, 2015.

MOREIRA, Fernanda P. et al. The Met allele of BDNF Val66Met polymorphism is associated with increased BDNF levels in generalized anxiety disorder. **Psychiatric Genetics**, [s. l.], v. 25, n. 5, p. 201–207, 2015.

NIETO, Steven J. et al. Don't worry; Be informed about the epigenetics of anxiety. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, [s. l.], v. 146–147, p. 60–72, 2016.

O'DONOVAN, A. et al. Lifetime exposure to traumatic psychological stress is associated with elevated inflammation in the Heart and Soul Study. **Brain Behav Immun.**, [s. l.], v. 26, n. 4, p. 642–649, 2012.

OGŁODEK, Ewa A. et al. The MCP-1, CCL-5 and SDF-1 chemokines as pro-inflammatory markers in generalized anxiety disorder and personality disorders. **Pharmacological Reports**, [s. l.], v. 67, n. 1, p. 85–89, 2015.

POLYAKOVA, Maryna et al. BDNF as a biomarker for successful treatment of mood disorders: A systematic & quantitative meta-analysis. **Journal of Affective Disorders**, [s. l.], v. 174, p. 432–440, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jad.2014.11.044>>

PRICE, Lawrence H. et al. Telomeres and ELS: an overview. **Biological Psychiatry**, [s. l.], v. 73, n. 1, p. 15–23, 2014.

QIN, S. et al. Amygdala subregional structure and intrinsic functional connectivity predicts individual differences in anxiety during early childhood. **Biol Psychiatry**, [s. l.], v. 75, n. 11, p. 892–900, 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24268662>>

QUACH, Austin et al. Epigenetic clock analysis of diet, exercise, education, and lifestyle factors. **Aging**, [s. l.], v. 9, n. 2, p. 419–446, 2017.

QUAGLIATO, Laiana Azevedo; NARDI, Antonio E. Cytokine alterations in panic disorder: A systematic review. **Journal of Affective Disorders**, [s. l.], v. 228, p. 91–96, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jad.2017.11.094>>

RAMIN, Cody et al. A prospective study of leukocyte telomere length and risk of phobic anxiety among women. **Psychiatry Research**, [s. l.], v. 230, n. 2, p. 545–552, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.psychres.2015.10.002>>

RENNA, Megan E. et al. The association between anxiety, traumatic stress, and obsessive-compulsive disorders and chronic inflammation: A systematic review and meta-analysis. **Depression and Anxiety**, [s. l.], v. 35, n. 11, p. 1081–1094, 2018.

RICHARDSON, Bruce. Primer: Epigenetics of autoimmunity. **Nature Clinical Practice Rheumatology**, [s. l.], v. 3, n. 9, p. 521–527, 2007.

RODRÍGUEZ, Natalia et al. Inflammatory dysregulation of monocytes in pediatric patients with obsessive-compulsive disorder. **Journal of Neuroinflammation**, [s. l.], v. 14, n. 1, p. 1–11, 2017.

SALUM, G. A. et al. Threat bias in attention orienting: Evidence of specificity in a large community-based study. **Psychological Medicine**, [s. l.], v. 43, n. 4, p. 733–745, 2013. a.

SALUM, Giovanni Abrahão et al. Pediatric anxiety disorders: From neuroscience to evidence-based clinical practice. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, [s. l.], v. 35, n. SUPPL. 1, p. 3–21, 2013. b.

SHALEV, I. et al. Exposure to violence during childhood is associated with telomere erosion from 5 to 10 years of age: A longitudinal study. **Molecular Psychiatry**, [s. l.], v. 18, n. 5, p. 576–581, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/mp.2012.32>>

SHALEV, Idan. Early life stress and telomere length: investigating the connection and possible mechanisms: a critical survey of the evidence base, research methodology and basic biology. **BioEssays**, [s. l.], v. 34, n. 11, p. 943–952, 2013. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3557830/%5Cnhttp://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3557830/pdf/nihms432712.pdf>>

SHIMADA-SUGIMOTO, Mihoko; OTOWA, Takeshi; HETTEMA, John M. Genetics of anxiety disorders: Genetic epidemiological and molecular studies in humans. **Psychiatry and Clinical Neurosciences**, [s. l.], v. 69, n. 7, p. 388–401, 2015.

SMOLLER, Jordan W.; BLOCK, Stefanie R.; YOUNG, Mirella M. Genetics of anxiety disorders: The complex road from DSM to DNA. **Depression and Anxiety**, [s. l.], v. 26, n. 11, p. 965–975, 2009.

STEIN, M. B.; SAREEN, M. D. Generalized Anxiety Disorder. **The new engl and journal of medicine Clinical**, [s. l.], v. 373, n. 21, p. 2059–2068, 2015.

STEPTOE, Andrew et al. The effect of beta-adrenergic blockade on inflammatory and cardiovascular responses to acute mental stress. **Brain, Behavior, and Immunity**, [s. l.], v. 70, p. 369–375, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.bbi.2018.03.027>>

TYNAN, Ross J. et al. Chronic stress alters the density and morphology of microglia in a subset of stress-responsive brain regions. **Brain, Behavior, and Immunity**, [s. l.], v. 24, n. 7, p. 1058–1068, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bbi.2010.02.001>>

TYRKA, Audrey R. et al. Childhood Adversity and Epigenetic Modulation of the Leukocyte Glucocorticoid Receptor : Preliminary Findings in Healthy Adults. [s. l.], v. 7, n. 1, p. e30148, 2012.

TYRKA, Audrey R. et al. Childhood Maltreatment and Methylation of FKBP5 Audrey. **Dev Psychopathol.**, [s. l.], v. 27, p. 1637–1645, 2015.

VERHOEVEN, Josine E. et al. Anxiety disorders and accelerated cellular ageing. **British Journal of Psychiatry**, [s. l.], v. 206, n. 5, p. 371–378, 2015.

VOISEY, Joanne et al. Epigenetic analysis confirms no accelerated brain aging in schizophrenia. **npj Schizophrenia**, [s. l.], v. 3, n. 1, p. 26, 2017. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/s41537-017-0026-4>>

WASZCZUK, Monika A. et al. The phenotypic and genetic structure of depression and anxiety disorder symptoms in childhood, adolescence, and young adulthood. **JAMA Psychiatry**, [s. l.], v. 71, n. 8, p. 905–916, 2014.

WOHLEB, E. S. et al. Adrenergic Receptor Antagonism Prevents Anxiety-Like Behavior and Microglial Reactivity Induced by Repeated Social Defeat. **Journal of Neuroscience**, [s. l.], v. 31, n. 17, p. 6277–6288, 2011. Disponível em: <<http://www.jneurosci.org/cgi/doi/10.1523/JNEUROSCI.0450-11.2011>>

WOHLEB, Eric S.; GODBOUT, Jonathan P. Basic aspects of the immunology of neuroinflammation. In: **Inflammation in Psychiatry**. [s.l: s.n.]. v. 28p. 1–19, 2013.

WOLF, Erika J. et al. HHS Public Access. [s. l.], p. 155–162, 2017.

WOLF, Erika J. et al. Posttraumatic psychopathology and the pace of the epigenetic clock: a longitudinal investigation. **Psychological Medicine**, [s. l.], n. 2017, p. 1–10, 2018.

WONG, Quincy J. J.; GREGORY, Bree; MCLELLAN, Lauren F. A Review of Scales to Measure Social Anxiety Disorder in Clinical and Epidemiological Studies. **Current Psychiatry Reports**, [s. l.], v. 18, n. 4, p. 1–15, 2016.

WOODWARD, Lianne J.; FERGUSSON, David M. Life course outcomes of young people with anxiety disorders in adolescence. **Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry**, [s. l.], v. 40, n. 9, p. 1086–1093, 2001. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1097/00004583-200109000-00018>>

YE, Jing et al. Transcriptional outcome of telomere signalling. **Nature Reviews Genetics**, [s. l.], v. 15, n. 7, p. 491–503, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/nrg3743>>

ZANNAS, Anthony S. et al. Lifetime stress accelerates epigenetic aging in an urban, African American cohort: Relevance of glucocorticoid signaling. **Genome Biology**, [s. l.], v. 16, n. 1, p. 1–12, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1186/s13059-015-0828-5>>

ZHANG, Tie-Yuan; MEANEY, Michael J. Epigenetics and the Environmental Regulation of the Genome and Its Function. **Annu. Rev. Psychol.**, [s. l.], v. 61, p. 439–466, 2010.