



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS**  
**FACULDADE DE MEDICINA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM EPIDEMIOLOGIA**



**TESE DE DOUTORADO**

**NÍVEIS DE ESTRESSE CRÔNICO MEDIDO POR CORTISOL MATERNO-  
INFANTIL E SEUS DETERMINANTES NA PRIMEIRA INFÂNCIA: ESTUDO  
DE COORTE DE NASCIMENTOS E ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO**

**Rafaela Costa Martins**

**Pelotas, RS**  
**2021**

**Rafaela Costa Martins**

***Níveis de estresse crônico medido por cortisol materno-infantil e seus determinantes na primeira infância: estudo de coorte de nascimentos e ensaio clínico randomizado***

A apresentação desta tese ao Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia da Universidade Federal de Pelotas é requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Epidemiologia

Orientador(a): Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Joseph Murray  
Co-orientador(a): Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Luciana Tovo Rodrigues

Pelotas, 2021

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas  
Catalogação na Publicação

M379n Martins, Rafaela Costa

Níveis de estresse crônico medido por cortisol materno-infantil e seus determinantes na primeira infância : estudo de coorte de nascimentos e ensaio clínico randomizado / Rafaela Costa Martins ; Joseph Murray, orientador ; Luciana Tovo Rodrigues, coorientadora. — Pelotas, 2021.

198 f. : il.

Tese (Doutorado) — Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia, Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Pelotas, 2021.

1. Epidemiologia. 2. Cortisol capilar. 3. Estresse. 4. Primeira infância. 5. Estudo de coorte. I. Murray, Joseph, orient. II. Rodrigues, Luciana Tovo, coorient. III. Título.

CDD : 614.4

**Rafaela Costa Martins**

NÍVEIS DE ESTRESSE CRÔNICO MEDIDO POR CORTISOL MATERNO-INFANTIL E SEUS DETERMINANTES NA PRIMEIRA INFÂNCIA: ESTUDO DE COORTE DE NASCIMENTOS E ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO

Banca examinadora:

**Prof. Dr. Joseph Murray (presidente)**

Universidade Federal de Pelotas

**Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Iná da Silva dos Santos (examinadora)**

Universidade Federal de Pelotas

**Prof. Dr. Mateus Luz Levandowski (examinador)**

Universidade Federal de Pelotas

**Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Adriane Xavier Arteche (examinadora)**

Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul



## **Agradecimentos**

Gostaria de agradecer primeiramente ao meu orientador, Prof. Joseph Murray, pelos ensinamentos e incentivo durante esses quatro anos.

Às minhas colegas de doutorado, que vem me acompanhando por muito tempo, sem disputa e com muita amizade. Deixo aqui meu agradecimento especial à minha amiga Adriana, que sim, era uma colega da Epidemiologia e virou minha amiga da vida.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Epidemiologia minha eterna gratidão pelos conhecimentos que me foram passados. Aos que trabalham no CPE, pela ajuda e companheirismo – especial agradecimento ao Mateus e Tiago, pela ajuda de sempre, para as meninas do laboratório, pelo incansável trabalho, e pelas minhas amigas Patrícia e Ana.

Para aqueles que são da área, ajudando quando preciso, mas que também fizeram o doutorado ser mais leve: Andrea, Lu, Inácio, obrigada.

À minha família, por nunca me deixar desistir, acompanhar meus passos de perto (caminhando por mim quando precisei) e por ser quem são.

Ao Cauane, por tudo! Ajuda diária, troca de conhecimento, e pelo amor que transbordou...

## Resumo

MARTINS, Rafaela Costa. **Níveis de estresse crônico medido por cortisol materno-infantil e seus determinantes na primeira infância: estudo de coorte de nascimentos e ensaio clínico randomizado**. 2021.196p. Tese de Doutorado – Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2021

O cortisol capilar é um biomarcador que vem sendo usado para medir estresse crônico. Diferente do estresse agudo, que pode ser bom para o corpo humano (como o exercício físico), o estresse crônico pode afetar negativamente diversos sistemas no organismo, como o imunológico, cardiovascular ou nervoso. Porém, ainda existem poucos estudos sobre determinantes, consequências e prevenção do estresse crônico. Assim, o primeiro objetivo dessa tese foi revisar sistematicamente a literatura sobre o impacto de intervenções parentais no estresse em crianças e seus cuidadores. Os resultados da meta-análise não confirmaram a hipótese que intervenções parentais modificam níveis de cortisol em crianças ou seus cuidadores. Porém, foi difícil comparar os estudos devido aos diferentes métodos usados, e apenas um estudo mediu cortisol capilar, ou seja, estresse crônico. O segundo objetivo da tese foi determinar o nível de cortisol capilar de 3.252 crianças e 3.329 cuidadores na Coorte de Nascimentos de Pelotas de 2015. Nesse estudo de base populacional, que é o maior sobre estresse crônico no mundo até hoje, a mediana de cortisol em crianças foi 7,6 pg/mg (IQR = 5,6 – 11,0) e nos cuidadores foi de 5,6 pg/mg (IQR = 4,2 – 7,9). O único determinante de cortisol capilar em crianças foi a educação materna, e nos cuidadores foram a educação, cor natural do cabelo, último corte de cabelo e última lavagem do cabelo. O último objetivo da tese foi identificar a adesão das mães em duas intervenções parentais oferecidas para famílias em vulnerabilidade. As duas intervenções (ACT e DBS) fazem parte do ensaio clínico randomizado PIÁ, aninhado à Coorte de Nascimentos de Pelotas de 2015. A adesão nos dois programas foi alta (ACT: 64,2% e DBS: 76,6%), e as mães afirmaram que tiveram experiências positivas em ambas as metodologias aplicadas. As mães também destacaram algumas dificuldades práticas para participar das

sessões. Para o ACT, a menor distância entre a casa e o local da intervenção e a menor idade materna foram preditoras da adesão. Não encontramos nenhum preditor para a adesão ao DBS.

Palavras-chave: Cortisol capilar. Estresse. Primeira Infância. Estudo de coorte. Brasil.

## Abstract

MARTINS, Rafaela Costa. **Chronic stress measured by cortisol in mothers and their child, and its determinants in early childhood: birth cohort and randomized controlled trial studies.** 2021.196p. PhD Thesis in Epidemiology. Post-Graduate Program in Epidemiology. Federal University of Pelotas, Pelotas, 2021.

Hair cortisol is a biomarker used to measure chronic stress. In contrast to acute stress, which may be good for health (e.g. physical exercise), chronic stress may negatively affect several systems of the organism, such as the immune, cardiovascular and nervous systems. However, there is relatively little evidence about determinants, consequences and prevention of chronic stress. Thus, the first objective of this thesis was to systematically review literature about the impact of parenting interventions that might reduce stress, in children and their caregivers. Meta-analytic results from this review did not support the hypothesis that parenting interventions alter cortisol levels in children or their caregivers. However, studies were hard to compare because of their varying methods, and only one study had used hair samples to measure levels of *chronic* cortisol. The second aim of this thesis was to determine cortisol levels of 3,252 children and 3,329 caregivers, in the 2015 Pelotas Birth Cohort Study. In this largest study worldwide to date the median level of hair cortisol in children was 7.6 pg/mg (IQR = 5.6 – 11.0) and in caregivers it was 5.6 pg/mg (IQR = 4.2 – 7.9). The only determinant of hair cortisol in children was maternal education, while in the caregivers, education, natural hair color, last haircut, and last hair wash associated with cortisol levels. The third objective of this thesis was to identify and explain the extent to which parents engaged in two group-based parenting programs (ACT and DBS), offered to high-risk families enrolled in a randomized controlled trial. Completion rates were high for both programs (ACT: 64.2% and DBS: 76.6%), and mothers reported positive experiences of both programmes. However, they also highlighted some practical difficulties in attending all the sessions. For the ACT program, shorter distance between the intervention site

and the household, as well as lower maternal age, predicted attendance. No significant predictor was found for DBS attendance.

Keywords: Hair cortisol. Stress. Early Childhood. Cohort study. Brazil.

## **Apresentação**

A presente tese foi elaborada sob a orientação do Professor Joseph Murray e coorientação da Dra. Luciana Tovo Rodrigues. O documento é composto pelo projeto de pesquisa, pela descrição das alterações realizadas na versão do projeto aprovada pela banca de qualificação, pelo relatório de trabalho de campo realizado no estudo de coorte de nascimentos de Pelotas de 2015 (acompanhamento dos 4 anos), bem como por um artigo de revisão, dois artigos originais e uma nota à imprensa com os principais resultados da tese.

O primeiro artigo da tese intitulado “Effects of parenting interventions on child and caregiver cortisol levels: systematic review and meta-analysis” foi publicado na revista *BMC Psychiatry* em julho de 2020. O segundo artigo da tese intitulado “Parental attendance in two early-childhood training programmes to improve nurturing care: a randomized controlled trial” foi publicado na revista *Children and Youth Services Review* em novembro de 2020. O terceiro artigo da tese intitulado “Determinants of chronic cortisol in children and their caregivers: results from the 2015 Pelotas (Brazil) Birth Cohort Study” será submetido à revista *Psychoneuroendocrinology*, após as considerações dos membros da banca.

## **Sumário**

|                                                  |     |
|--------------------------------------------------|-----|
| Projeto de pesquisa.....                         | 11  |
| Modificações em relação ao projeto original..... | 89  |
| Relatório de trabalho de campo.....              | 91  |
| Artigo de revisão.....                           | 131 |
| Artigo original 1.....                           | 149 |
| Artigo original 2.....                           | 184 |
| Nota à imprensa.....                             | 195 |

## PROJETO DE PESQUISA

---





Universidade Federal de Pelotas  
Faculdade de Medicina  
Departamento de Medicina Social  
Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia



Níveis de estresse crônico medido por cortisol materno-infantil e seus determinantes na primeira infância: estudo de coorte de nascimentos e ensaio clínico randomizado

PROJETO DE PESQUISA

Rafaela Costa Martins

Orientador: Prof. Dr. Joseph Murray

Co-orientador(a): Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Luciana Tovo Rodrigues

Pelotas, agosto de 2018

**Rafaela Costa Martins**

*Níveis de estresse crônico medido por cortisol materno-infantil e seus determinantes na primeira infância: estudo de coorte de nascimentos e ensaio clínico randomizado*

Projeto de pesquisa apresentado ao Programa de Pós-graduação em Epidemiologia da Universidade Federal de Pelotas como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Epidemiologia.

**Orientador(a):** Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Joseph Murray

**Co-orientador(a):** Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Luciana Tovo Rodrigues

Pelotas, 2018

## **Sumário**

|                                                                                              |           |
|----------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Resumo.....</b>                                                                           | <b>11</b> |
| <b>Lista de definições e abreviaturas .....</b>                                              | <b>12</b> |
| <b>Lista de ilustrações .....</b>                                                            | <b>17</b> |
| <b>Artigos propostos.....</b>                                                                | <b>18</b> |
| 1. Introdução .....                                                                          | 19        |
| 2. Marco teórico .....                                                                       | 21        |
| 3. Revisão de literatura .....                                                               | 33        |
| 4. Justificativa.....                                                                        | 41        |
| 5. Objetivos .....                                                                           | 42        |
| 6. Hipóteses .....                                                                           | 43        |
| 7. Metodologia .....                                                                         | 43        |
| 7.1. Artigo 1 .....                                                                          | 44        |
| 7.2. Artigo 2 .....                                                                          | 45        |
| 7.3. Artigo 3 .....                                                                          | 50        |
| 7.4. Cronograma .....                                                                        | 60        |
| 8. Financiamento .....                                                                       | 62        |
| 9. Referências .....                                                                         | 63        |
| <b>ANEXO A: AVALIAÇÃO DE ESTRESSE MATERNO.....</b>                                           | <b>71</b> |
| <b>ANEXO A1 – Perceived Stress Scale .....</b>                                               | <b>71</b> |
| <b>ANEXO B: COLETA DE CABELO .....</b>                                                       | <b>73</b> |
| <b>ANEXO B1 – Protocolo da coleta de cabelo .....</b>                                        | <b>73</b> |
| <b>ANEXO B2 – Questionário sobre características cabelo da mãe e da<br/>    criança.....</b> | <b>79</b> |
| <b>ANEXO B3 – Questionário para análise do cortisol .....</b>                                | <b>80</b> |
| <b>ANEXO B4 – AUDIT .....</b>                                                                | <b>81</b> |
| <b>ANEXO C: Conteúdos das sessões de ACT e Conte Comigo .....</b>                            | <b>85</b> |

## **Resumo**

O cortisol é conhecido como o “hormônio do estresse” e é secretado pelo eixo hipotalâmico-pituitária-adrenal (HPA), que faz parte do sistema endócrino, em resposta a algum estímulo estressor. Um novo método para analisar o cortisol como biomarcador do estresse crônico de forma não-invasiva iniciou nos anos 2000, com a coleta de cabelo. A literatura de cortisol capilar ainda possui diversas lacunas e está em crescimento. Assim, o objetivo dessa tese será avaliar os níveis de estresse crônico medido por cortisol capilar materno-infantil e seus determinantes na primeira infância em uma coorte de nascimentos da cidade de Pelotas, cidade localizada no sul do Brasil. Serão utilizados dados da coorte de nascimentos de Pelotas de 2015 (acompanhamento dos 4 anos) e dados do estudo PIÁ (ensaio clínico randomizado aninhado à Coorte de Nascimentos de Pelotas de 2015). O desfecho principal dos três artigos será o cortisol, sendo que nos dois artigos originais será especificamente o capilar e na revisão sistemática será qualquer tipo de cortisol. No primeiro estudo será feita uma revisão sistemática para avaliar o efeito de intervenções parentais educacionais no cortisol materno e infantil. O segundo estudo irá avaliar os determinantes do cortisol capilar das crianças da Coorte de Nascimentos de 2015 e suas mães, além de verificar a correlação entre o cortisol capilar materno e infantil. O terceiro estudo irá avaliar o impacto de duas metodologias (ACT e Conte Comigo) no cortisol materno e infantil.

## **Lista de definições e abreviaturas**

ACT: ACT Raising Safe Kids Program

ACTH: Hormônio adrenocorticotrófico

AIS: *The American Institute of Stress*

AUC: Área sobre a curva (em inglês: *area under the curve*)

AUDIT: *Alcohol Use Disorders Identification Test*

AVP: Hormônios liberadores de arginina vasopressina

CAR: resposta do cortisol ao acordar (em inglês: *cortisol awakening response*)

CC: Conte Comigo

CONSORT: *Consolidated Standards of Reporting Trials*

CPE: Centro de Pesquisas Epidemiológicas

CRH: Hormônios liberadores de corticotropina

DCS: inclinação do cortisol diurno (em inglês: *diurnal cortisol slope*)

ELISA: ensaio de imunoabsorção enzimática (em inglês: *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*)

ELSA: *English Longitudinal Study of Aging*

EUA: Estados Unidos da América

HPA: Hipotalâmico-pituitária-adrenal

IMC: Índice de Massa Corporal

INTER-NDA: INTERGROWTH-Neurodevelopment Assessment

LC: *Locus coeruleus* (estrutura da massa cinzenta cerebral formada por aglomerado de neurônios que sintetizam e produzem quantidades significativas de catecolaminas)

MESH: Medical Subject Heading

NE: Norepinefrina ou noradrenalina

OMS: Organização Mundial da Saúde

PIÁ: Primeira Infância Acolhida

PROSPERO: *International Prospective Register of Systematic Reviews*

SAG: Síndrome de Adaptação Geral

SAM: Simpático Adrenomedular

TCLE: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

UFPel: Universidade Federal de Pelotas

## **Lista de ilustrações**

### **Figuras**

|                                                                                                                       |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1: Representação esquemática da estrutura das glândulas adrenais e dos produtos de cada região das mesmas..... | 22 |
| Figura 2: Descrição da anatomia e da fisiologia do eixo HPA. ....                                                     | 24 |
| Figura 3: As três formas de medir a área sobre a curva. ....                                                          | 29 |
| Figura 4: Fluxograma da seleção dos artigos da revisão .....                                                          | 34 |
| Figura 5: Fluxograma da Coorte de Nascimentos de 2015 de Pelotas/RS ...                                               | 46 |
| Figura 6: Plano de análise do primeiro artigo da tese .....                                                           | 49 |
| Figura 7: Mapeamento das crianças elegíveis para o estudo PIÁ por região                                              | 53 |

### **Tabelas**

|                                                                                                                                            |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 1: Tipos de cortisol e suas particularidades.....                                                                                   | 26 |
| Tabela 2: Descrição dos ensaios clínicos randomizados que avaliaram o efeito de intervenções parentais no cortisol materno e infantil..... | 36 |
| Tabela 3: Variáveis independentes .....                                                                                                    | 47 |

## **Artigos propostos**

**Artigo 1:** Revisão sistemática da literatura sobre a influência de intervenções parentais no nível de cortisol materno-infantil

**Artigo 2:** Concentração de cortisol capilar e associação entre estresse materno-infantil medido por coleta de cabelo na Coorte de Nascimento de Pelotas de 2015.

**Artigo 3:** Qual o impacto de intervenções parentais (Conte Comigo e ACT) no cortisol crônico materno-infantil?

## 1. Introdução

O corpo humano é um sistema extremamente complexo que necessita manter o equilíbrio dinâmico para sobreviver. Porém, esse equilíbrio é constantemente inibido por eventos estressores e o organismo precisa de adaptação para que a homeostasia se reestabeleça. (1) No início do século passado, Osler iniciou os estudos na área de estresse, associando esse processo à preocupações e ao excesso de trabalho, podendo o indivíduo desenvolver doenças em decorrência disso. Selye, um dos primeiros grandes estudiosos da área do estresse, conceituou esse termo como “elemento inerente à toda doença, que produz certas modificações na estrutura e na composição química do corpo, as quais podem ser observadas e mensuradas”. (2)

Indivíduos expostos a eventos estressores, ou seja, estímulos avaliados como adversos que mantem o corpo alerta, (3) estão suscetíveis a ocorrência de três reações no organismo, conhecidas como Síndrome de Adaptação Geral (SAG): 1) reação de alarme, onde o indivíduo decide se deve lutar ou fugir do acontecimento; 2) fase de resistência, que acontece caso o agente indutor do estresse se mantenha ativo, onde o organismo tenta se adaptar ao fator que está causando o estresse; 3) fase de exaustão, onde a estimulação fisiológica se mantém elevada causada por muito estresse, podendo levar a danos irreversíveis ou até a morte. (1) Lipp inseriu mais uma fase à SAG, entre as fases 2 e 3, chamada de “fase de quase-exaustão”, onde o processo de adoecimento do organismo inicia e os órgãos mais vulneráveis começam a mostrar sinais de deterioração. (4)

Quando o organismo não consegue se adaptar aos estímulos que estão causando uma carga de estresse, começa a fase da “quase-exaustão”, onde mecanismos fisiológicos iniciados no cérebro consomem mais recursos do que o organismo tem para oferecer, prejudicando a saúde. (5) Por isso, considerando esses diversos fatores negativos à saúde relacionados ao estresse, uma grande atenção na área da saúde pública deve ser dada à esse tema. O estresse está associado ao desenvolvimento de diversas doenças, dentre elas as cardiovasculares, mentais, obesidade e de pele. (6–9) Além disso, o estresse é conhecido como fator de risco importante para o



desenvolvimento de comportamentos maléficos para a saúde como o uso de álcool e o fumo. (9)

O cortisol é conhecido como o “hormônio do estresse” e é secretado pelo eixo hipotalâmico-pituitária-adrenal (HPA), que faz parte do sistema endócrino, em resposta a algum estímulo estressor. (5) A ativação desse eixo está envolvida na adaptação do corpo aos eventos adversos para atingir a homeostase e resulta na liberação de cortisol e um mecanismo complexo de respostas que envolve alterações fisiológicas de órgãos vitais. (10) O corpo humano está preparado para receber estímulos estressores, porém, quando esses estímulos são prolongados, inicia um processo tóxico no cérebro pela grande produção de cortisol. Por conta disso, o organismo começa a consumir mais recursos do que deveria, prejudicando saúde em diversas maneiras. (5)

Os níveis de cortisol no organismo podem ser medidos através de amostras de saliva, urina, sangue ou cabelo, sendo que apenas a coleta capilar consegue estimar o estresse crônico, ou seja, correspondente a semanas ou meses enquanto as medidas de saliva, urina e sangue refletem níveis de cortisol no organismo em termos de minutos até dias. A medida de cortisol capilar para avaliar estresse iniciou no ano 2000 com estudos em humanos e avançou tanto com avaliações em animais quanto em humanos. O protocolo laboratorial de extração e quantificação de cortisol é validado (11), a coleta da amostra biológica é não-invasiva e essa é fácil de ser armazenada (pode ser estocada em temperatura ambiente). Apesar da análise laboratorial de cortisol capilar ser bastante cara, é extremamente interessante para estudos epidemiológicos. (12,13)

As crianças que vivenciam estresse recorrente podem desregular o mecanismo do cortisol no organismo já que ainda não está completamente formado, trazendo desfechos negativos para a saúde. (14) Estímulos e interação entre mãe-criança são variáveis críticas para determinar o estresse infantil. Uma das principais formas de moldar o eixo HPA indiretamente nas crianças é com qualidade do cuidado da mãe e ausência de uso de força e violência, ou seja, as crianças que recebem melhor cuidado e tem maior disponibilidade dos pais são aquelas que apresentam níveis de cortisol normais. (15,16)

Devido às várias consequências de estresse para saúde, a identificação dos seus determinantes e métodos de prevenção destacam o tema como uma área de pesquisa importante para saúde. A literatura sobre estresse crônico medido por cortisol capilar ainda apresenta diversas lacunas e necessita maiores entendimentos em relação aos seus determinantes e como podemos evitar que o estresse crônico afete a saúde das pessoas. Em virtude disso, esta tese tem como objetivo avaliar os níveis de estresse crônico medido por cortisol capilar materno-infantil e seus determinantes na primeira infância em uma coorte de nascimentos da cidade de Pelotas, cidade localizada no sul do Brasil.

## **2. Marco teórico**

O marco teórico foi construído para expor o panorama geral de fatores associados a manutenção da concentração de cortisol e sua associação com intervenções educacionais parentais. Nessa seção serão discutidas, em tópicos, conceitos, a biologia do cortisol, fatores associados, características de cada modo de coletar o hormônio e técnicas de medida do hormônio, buscadas por uma revisão não sistemática da literatura. Por fim, é apresentada uma revisão sistemática sobre intervenções parentais e seus efeitos sobre cortisol.

### **2.1. Definição de estresse**

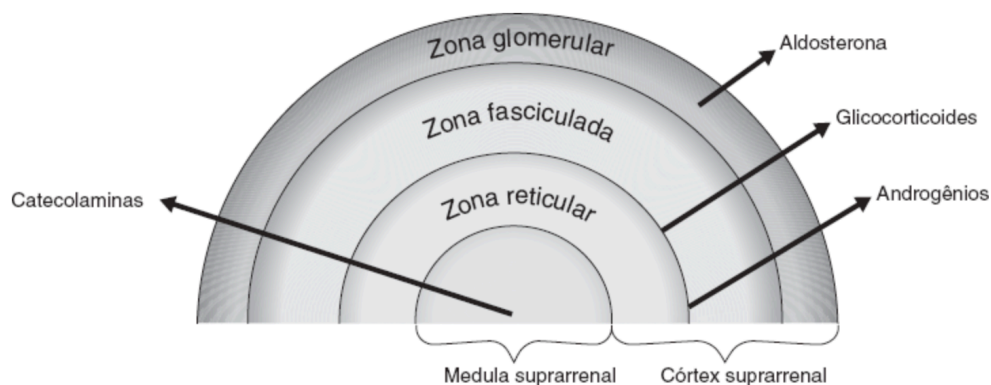
O organismo humano possui um sistema complexo de manutenção e equilíbrio do corpo para a sobrevivência chamado de homeostase. Os estressores são constantemente perturbadores desse estado de estabilidade do corpo, fazendo com que respostas adaptativas sejam acionadas com a intenção de reestabelecer essa homeostase. Diante de um evento estressor a atenção aumenta, as funções cerebrais focam na ameaça percebida, o coração e a respiração aceleram e o fluxo sanguíneo é direcionado para áreas mais necessitadas, como cérebro, coração e músculos. Assim, o estresse pode ser definido como um estado de desarmonia ou de perturbação à homeostasia. (17,18)

Porém, esse sistema complexo não é sempre ruim aos indivíduos, pelo contrário, é fundamental para o funcionamento do corpo humano. Quando um evento estressor ocorre, o organismo reage fisiologicamente buscando a

homeostasia e protege o corpo no curto prazo. Caso o sistema neuroendócrino precise se adaptar a diversas situações adversas, uma carga alostática começa a desgastar os órgãos vitais. A carga alostática é uma sobrecarga que causa efeitos negativos no corpo humano quando não há mais possibilidade de adaptação, determinada pela genética e pelo ambiente. Logo, o estresse é considerado tóxico quando responde fisiologicamente aos efeitos de longo prazo. (19)

## 2.2. Histologia das glândulas adrenais

As glândulas adrenais, ou suprarrenais, situadas na parte superior dos rins, são produtoras de hormônios relacionados ao estresse. (20) Essas glândulas são constituídas por regiões histologicamente distintas: o córtex adrenal e a medula adrenal (Figura 1). O córtex é caracterizado pela síntese e secreção de hormônios esteróides derivados do colesterol e é a região anatômica mais externa da glândula. É dividido histologicamente em três zonas com diferentes características. A zona glomerular secreta hormônios minero-corticóides, como aldosterona. Já a zona fasciculada produz glicocorticóides, como cortisol. Por último, a zona reticular produz hormônios sexuais. A medula adrenal é o centro da glândula e secreta epinefrina e



norepinefrina. (21)

Figura 1: Representação esquemática da estrutura das glândulas adrenais e dos produtos de cada região das mesmas. Fonte: adaptado de Costanzo (22)

## 2.3. Eixo HPA

O efeito do estresse em mamíferos pode ser observado em dois sistemas: o simpático adrenomedular (SAM) e o hipotalâmico-pituitária-adrenal

(HPA). Quando o corpo percebe um fator estressor, inicia no hipotálamo a secreção de hormônios liberadores de corticotropina (CRH) e arginina vasopressina (AVP), estimulando, na pituitária posterior, a produção do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) e a ativação dos neurônios noradrenérgicos (LC/NE). (5,18,23)

O SAM (Figura 2) resulta no aumento da secreção de catecolaminas circulantes (principalmente a adrenalina e a noradrenalina) e ativação dos receptores adrenérgicos no centro da glândula adrenal. Este mecanismo desencadeia no organismo uma ação em diversos órgãos rapidamente, garantindo fornecimento de sangue ao cérebro e aos músculos (reação de luta ou fuga). Nesse sistema, o hormônio não ultrapassa a barreira hematoencefálica em grau significativo, porém, através do LC, a ação das catecolaminas acontece no cérebro. Esse sistema tem um papel importante na atenção e vigilância do ser humano, auxiliando também na ativação do sistema HPA. (5)

O HPA (Figura 2) resulta na produção de glicocorticóides (cortisol em humanos), hormônios esteróides produzidos no córtex adrenal, tem seu maior alvo o cérebro. Também, diferente da epinefrina, os glicocorticóides demoram para serem produzidos (25 minutos para atingir o nível máximo) e os seus impactos são desenvolvidos mais lentamente e permanecem por períodos prolongados. Durante esse processo, o hormônio liberador de corticotrofina (CRH) é liberado no núcleo do hipotálamo e é transportado pelo sangue até a pituitária anterior, onde há estimulação da liberação do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH). O ACTH interage com os receptores no córtex da glândula adrenal para estimular a produção de cortisol para todo o corpo. Esse hormônio entra no citoplasma das células, onde, por sua vez, interagem com os seus receptores.

Em condições normais, a produção de ACTH e CRH obedecem a um ritmo circadiano biológico e, assim, são inibidos pelos altos níveis de cortisol no sangue, sinalizando o início do processo no hipotálamo novamente. A regulação de ambos, SAM e HPA, converge no hipotálamo, que integra funções autonômicas e endócrinas com comportamento. (5)

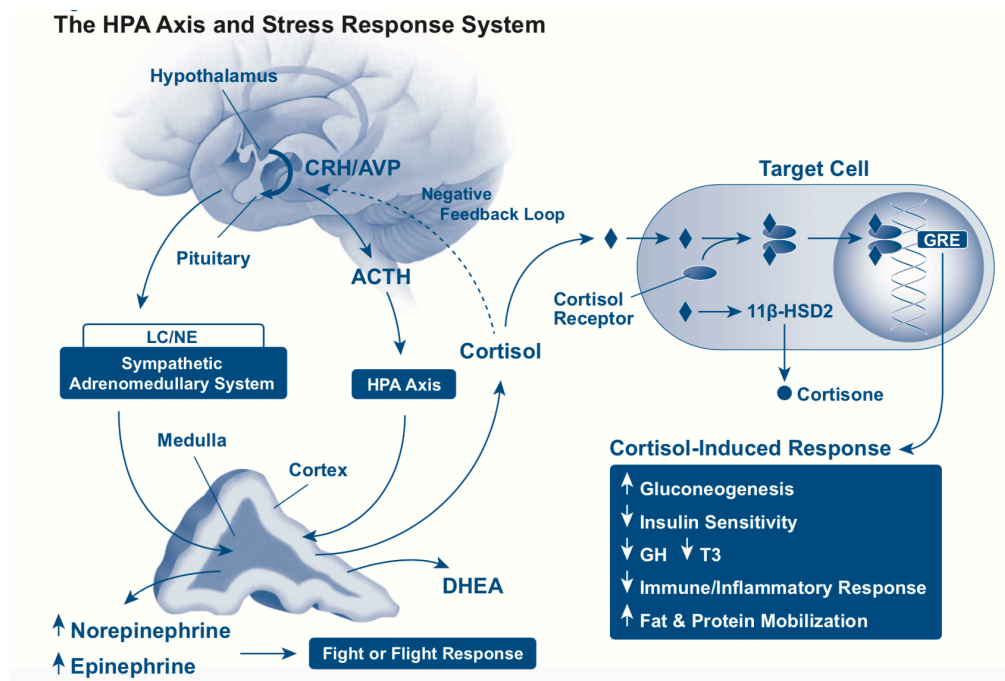


Figura 2: Descrição da anatomia e da fisiologia do eixo HPA. Fonte: Guilliams et. al (2010) (23)

#### 2.4. Tipos de medida de cortisol

O hormônio cortisol está presente no corpo humano na forma total e livre. O cortisol total é composto pelo cortisol presente no sangue ligado a proteínas e o livre é considerado todo cortisol que sobrou sem conexão à essas proteínas. (24) Hoje, de acordo com a “hipótese do hormônio livre”, o interesse de pesquisadores é maior no cortisol livre porque é o único tipo que consegue ser biologicamente ativo pela sua capacidade de entrar na célula. (25)

O processo fisiológico do cortisol é marcado por um ritmo circadiano, em uma periodicidade de 24 horas, controlado pelo hipotálamo, que funciona de acordo com respostas do meio ambiente (luminosidade, sensações térmicas). A partir dessas respostas, há um pico de secreção do hormônio no início da manhã, uma liberação de cortisol menor pela tarde e secreção mínima à noite. (22,26) Por esse motivo, dependendo da forma que o cortisol for medido – principalmente medidas agudas –, o ritmo circadiano irá influenciar no resultado. Existem diferenças substanciais que devem ser levadas em conta no momento de decidir qual tipo de coleta de cortisol que será feita. A tabela 1 mostra algumas características que diferenciam alguns tipos de

medida (sanguínea, urinária, salivar ou capilar) do hormônio cortisol.

Tabela 1: Tipos de cortisol e suas particularidades

|                                                   | Tipo de medida de cortisol (12)          |                                                                                       |                                       |                                                 |
|---------------------------------------------------|------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------|-------------------------------------------------|
|                                                   | Sérico                                   | Salivar                                                                               | Urinário                              | Capilar                                         |
| <b>Tipo de cortisol</b>                           | Livre e total                            | Livre                                                                                 | Livre                                 | Livre                                           |
| <b>A coleta de material biológico é invasiva?</b> | Sim (agulha)                             | Não                                                                                   | Não                                   | Não                                             |
| <b>Local de coleta</b>                            | Clínica ou laboratório                   | Qualquer                                                                              | Qualquer                              | Qualquer                                        |
| <b>Técnica de coleta</b>                          | Coleta de sangue                         | Cuspe ou saliva                                                                       | Coleta de urina combinada de 24 horas | Amostra de cabelo da região posterior da cabeça |
| <b>Quem realiza a coleta?</b>                     | Equipe médica                            | Outra pessoa treinada                                                                 | Próprio participante                  | Outra pessoa treinada                           |
| <b>Armazenamento</b>                              | Congelamento                             | Temporariamente em ambiente com temperatura normal ou resfriado e depois congelamento | Ambiente resfriado                    | Local com temperatura ambiente                  |
| <b>A coleta é referente a</b>                     | Minutos até horas (resposta instantânea) | Minutos até horas (resposta instantânea)                                              | 24 horas (resposta aguda)             | Semanas até meses (resposta crônica)            |

| quanto tempo?                              |                                                      |                                                                            |                                                                                                                                                 |                                                                 |
|--------------------------------------------|------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|
| <b>Valor de referência</b>                 | Antes de 12h: 7-25 µg/dL<br>Pós 12h: 2-14 µg/dL (27) | 7 - 9h: 100-750 ng/dL<br>15 - 17h: <401 ng/dL<br>23 - 00h: <100 ng/dL (28) | 0-2 anos: não estabelecido<br>3-8 anos: 1,4-20 µg/24h<br>9-12 anos: 2,6-37 µg/24h<br>13-17 anos: 4,0-56 µg/24h<br>≥18 anos: 3,5-45 µg /24h (29) | <20 anos: não estabelecido<br>20-76 anos: 17,7-153,2 pg/mg (11) |
| <b>Possibilidade de coleta em crianças</b> | Não recomendado                                      | Possível, mas necessária padronização do protocolo                         | Possível, mas necessária padronização do protocolo                                                                                              | Possível                                                        |



## 2.5. Fatores associados à concentração de cortisol

A avaliação do cortisol é muito importante uma vez que grandes quantidades de cortisol livre no corpo humano causam consequências biológicas prejudiciais ao organismo. (30) O cortisol também é considerado um biomarcador do estresse. A forma que esse hormônio é coletado influencia no tempo de captação do estresse no corpo e no tipo de cortisol que será coletado – livre ou total. Nesta seção, serão apresentados os fatores associados à concentração de cortisol extraído do cabelo, da saliva, do sangue e da urina, já que são influenciados pelo modo e o momento como o hormônio é coletado.

### 2.5.1. Salivar, urinário e sérico

Em coletas que visam estimar as concentrações agudas do hormônio, existem três medidas importantes, geralmente apresentadas em estudos epidemiológicos: nível do cortisol logo ao acordar (CAR), a inclinação entre a medida do cortisol ao acordar até a hora de dormir (DCS) e a área abaixo da curva (AUC) estimada da medida de cortisol total secretado em 24 horas. Apesar do CAR ainda não ser muito entendido na literatura científica, ele é considerado importante para estimar tanto o DCS quanto o AUC. Melhores desfechos em saúde estão relacionados a uma inclinação negativa mais acentuadas (declínio) entre o cortisol matutino e o vespertino – quando a concentração do cortisol vespertina é maior que a matutina a situação preocupa, pois alerta para estresse crônico, fadiga persistente, estresse pós-traumático, dentre outros malefícios à saúde. Na maioria dos casos em que o cortisol diurno é considerado, as maiores AUCs estão associadas com estresse crônico. (31,32) O AUC pode ser apresentado na literatura em relação à linha de base, ao aumento das medidas ou a soma dos dois (Figura 3).

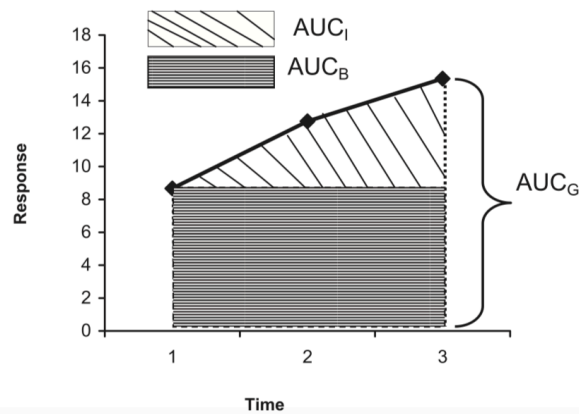


Figura 3: As três formas de medir a área sobre a curva. Fonte: Fekedulegn et. al (2007) (33)

Um estudo realizado na Croácia com 903 estudantes de 18-21 anos analisou a associação entre o cortisol salivar e seus determinantes. Os participantes coletaram saliva três vezes em dias diferentes dentro de uma semana: 1<sup>a</sup>) ao acordar, 2<sup>a</sup>) 30-45 minutos após acordar, 3<sup>a</sup>) na hora de deitar. As variáveis associadas com o desfecho cortisol salivar diário foram sexo e ritmo circadiano. Levando em consideração a hora que o desfecho foi coletado, as meninas tiveram maiores níveis de cortisol salivar ao acordar (CAR) ( $p < 0,001$ ), maior declínio na inclinação do DCS ( $p < 0,005$ ) e maior AUC ( $p < 0,001$ ) do que os meninos. Os estudantes que acordavam mais cedo e acumulavam mais horas acordados tiveram maior CAR ( $p < 0,001$ ), menor declínio no DCS ( $p < 0,001$ ) e maior AUC ( $p < 0,001$ ). De maneira menos consistente, porém também associadas, estão as variáveis idade, dieta, uso de drogas, desempenho escolar e ter um melhor amigo. (31)

Outro estudo realizado no Brasil avaliou o cortisol salivar matutino e vespertino de 91 crianças em cinco estágios da vida (45 dias até 6 meses, 6 meses até 12 meses, 12 meses até 18 meses, 18 meses até 24 meses e 24 meses até 36 meses). Os resultados mostraram que o cortisol matutino era mais alto que o vespertino nas cinco etapas do estudo ( $p < 0,001$ ). Além disso, foi encontrada uma correlação negativa tanto entre o cortisol medido pela manhã e a duração do sono noturno quanto o mesmo cortisol e o número de refeições por dia. Já em relação ao cortisol medido pela tarde foi observada uma correlação negativa com medidas antropométricas. Não foi encontrada diferença estatística em relação à idade e sexo entre as dosagens de cortisol

vespertino e matutino. (34)

Rosmalen e colaboradores investigaram os determinantes do cortisol salivar em adolescentes de 10-12 anos do norte da Holanda. (35) Foram realizadas três medidas de cortisol salivar na casa dos participantes nos seguintes horários: 7h00, 7h30 e 20h00. A AUC das três medidas foi maior nas meninas ( $p < 0,001$ ). A época do ano em que a coleta foi feita teve influência no resultado do cortisol ao final do dia, sendo os maiores valores referentes ao verão. Os autores relacionam isso ao fato das atividades realizadas serem diferentes em cada estação do ano. Apesar de o sexo ser uma variável importante na medida de cortisol salivar, a idade, as variáveis perinatais (duração da gravidez e peso ao nascer), o IMC e o desenvolvimento da puberdade não foram variáveis associadas ao cortisol salivar.

Homens idosos ( $n=325$ ) participaram de um estudo cujo objetivo era avaliar se a duração do sono estava associada com a secreção de cortisol livre na urina em 24 horas. A duração do sono medida por acelerômetro não foi associada ao nível de cortisol livre na urina, porém a medida subjetiva medida por questionário auto-aplicado encontrou uma associação inversa com o nível de cortisol urinário. Este achado sugere que o mecanismo o qual a curta duração do sono afeta a saúde negativamente não é determinada pelo alto nível de cortisol livre medido nas 24 horas pela urina. (36)

Um grupo de pesquisadores da Holanda e dos Estados Unidos investigaram o efeito de algumas variáveis em relação ao cortisol sérico de adultos saudáveis. A amostra, composta por 143 pessoas (109 holandeses e 34 americanos), fez coleta de sangue a cada 10 minutos por 24h. A média de cortisol medido nas 24h foi maior nas mulheres com idade referente à pré-menopausa se comparadas com os homens da mesma idade ( $p < 0,05$ ), mas não teve diferença em relação ao sexo em pessoas com mais de 50 anos. De acordo com esse estudo, as variáveis que determinam o cortisol sérico medido em 24h foram sexo e idade. (37)

Um estudo realizado na Suécia com pacientes adultos com câncer renal encontrou uma associação entre aumento no cortisol medido no sangue e presença de tumor avançado em pacientes com células renais cancerígenas

( $p < 0,05$ ). (38) Outro estudo mostrou que homens chineses com média de idade igual à 22 anos e restrição de sono tiveram níveis de cortisol sérico diminuídos, mas após uma noite de sono os níveis de cortisol sérico voltaram ao normal. (39) Alguns dos estudos relacionados ao cortisol sérico são realizados com intuito de medir cortisol agudo para analisar as respostas imediatas ao estresse. Exemplos são estudos mostrando que, após cirurgia coronariana, altos níveis de cortisol sérico associados ao aumento do risco de delírio (40), aumento no risco de problemas cognitivos. (41)

#### 2.5.1. Capilar

Um novo método para analisar o cortisol como biomarcador do estresse crônico de forma não-invasiva iniciou nos anos 2000, com a coleta de cabelo. A literatura de cortisol capilar ainda possui diversas lacunas e está em crescimento. Algumas variáveis vêm sendo estudadas como determinantes da concentração de cortisol capilar nos seres humanos.

Uma análise transversal do estudo ELSA avaliou a associação entre cortisol capilar e adiposidade em uma população inglesa com idade entre 54-87 anos. Os resultados apontaram que os indivíduos obesos ( $IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$ ) e aqueles com circunferência da cintura acima do ponto de corte *National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III* ( $\geq 102$  cm em homens,  $\geq 88$  cm em mulheres) tinham uma concentração de cortisol capilar elevada. Na análise longitudinal, os autores encontraram uma associação entre a persistência da obesidade e a concentração de cortisol capilar. (42)

Um dos primeiros estudos com crianças sobre coleta de cabelo para análise de cortisol foi feito na Suíça com indivíduos entre 6-8 anos no ano de 2014. Este estudo avaliou a associação entre concentração de cortisol capilar e diversas exposições. Os autores encontraram associação entre cortisol capilar e IMC nas meninas e com queixas somáticas em meninos. Além disso, não foi encontrada associação entre concentração de cortisol e estresse, qualidade de vida e pressão arterial. (43) Outro estudo com crianças encontrou associação apenas com zinco capilar, educação materna e paterna – não foi encontrada associação com sexo, idade, cor da pele, nível socioeconômico do bairro e estado civil dos pais. (44) um estudo considerando apenas crianças

obesas encontrou uma associação do cortisol capilar com IMC e circunferência da cintura. (45)

A literatura do cortisol capilar, ainda escassa, diverge no que diz respeito às possíveis variáveis que influenciam esse biomarcador do estresse no corpo humano. Um estudo realizado no Canadá encontrou associação do cortisol capilar com sexo e diabetes autorreferida, porém não teve associação com idade, fumo e época do ano que o cortisol foi coletado. (46) Dois estudos com adultos mediram apenas duas variáveis em comum, sendo que apenas o IMC esteve associado com o cortisol capilar em ambos (idade foi associado com cortisol capilar em apenas um desses estudos). Hipotireoidismo, TSH sanguíneo e distância do corte de cabelo até o couro cabeludo estiveram associados ao cortisol capilar em um desses estudos. (47) Já no outro apenas as variáveis sexo, diabetes, época do ano que o cortisol foi coletado, cor da pele, pintura capilar, cor natural do cabelo, tempo de armazenamento do cortisol, uso de corticóides e sintomas depressivos estiveram associadas ao cortisol capilar. (48)

Uma metanálise realizada em 2017 com a inclusão de 72 artigos para avaliar os determinantes do cortisol capilar em indivíduos de qualquer idade e de ambos os sexos. De acordo com esse estudo, a concentração de cortisol capilar esteve associada positivamente com IMC, razão cintura-quadril e pressão arterial sistólica, porém não esteve associada com fumo e pressão arterial diastólica. Além disso, de acordo com Stalder e colaboradores, as principais variáveis que devem ser incluídas no modelo como confundidoras são sexo, idade, frequência de lavagem do cabelo, tratamento capilar e uso de anticoncepcional. (49) Também analisando indivíduos de todas as idades, um estudo encontrou que homens e indivíduos mais jovens tinham maior concentração de cortisol capilar. Também foi encontrada uma associação entre o cortisol capilar e a distância que o corte de cabelo foi feita até o couro cabeludo. Não foram associados com o desfecho o fumo, a frequência de lavagem, o tipo de cabelo, a cor natural do cabelo, o estado civil, o uso de medicamentos de forma geral e apenas o uso de anticoncepcional. (50)

Como os determinantes de cortisol podem variar de acordo com a idade, Gray et. al realizaram uma revisão sistemática em 2017 apenas com indivíduos com 18 anos ou menos que incluiu 36 artigos. (51) Os resultados apontaram

sexo masculino e variáveis antropométricas (IMC e circunferência da cintura) como importantes determinantes em pesquisa de cortisol capilar, pois são positivamente correlacionadas com o desfecho. Além disso, existe evidência não consolidada que sugere que quanto maior nível socioeconômico, menor a concentração de cortisol capilar. Outra informação relevante que o autor relata é que a frequência de lavagem do cabelo e o uso de produtos e tratamentos capilares não afetam a concentração de cortisol capilar quando a coleta capilar é até, aproximadamente, 6cm do couro cabeludo. Idade, uso de esteróides, alergias, exposição à trauma e estresse na infância, tipo e coloração do cabelo, doenças psiquiátricas e variáveis perinatais ainda não possuem consistência na literatura.

### **3. Revisão de literatura**

A revisão de literatura teve foco em artigos que avaliaram o impacto de intervenções parentais que ajudam no cuidado dos filhos no nível de cortisol materno ou infantil. A estratégia de busca feita no PubMed foi baseada nos seguintes termos: (((((((((((parent\* intervention) OR parent\* training) OR parent\* program) OR parent\* education) OR maternal intervention) OR maternal training) OR maternal education) OR maternal program) OR family intervention) OR family training) OR family education) OR family program))) AND (((cortisol) OR HPA) OR hypothalamic pituitary adrenal axis) OR glucocorticoid)) AND (((randomized controlled trial) OR trial) OR intervention). Os critérios de elegibilidade utilizados foram:

- a) estudo deve ter sido feito em seres humanos
- b) o delineamento deve ter sido ensaio clínico randomizado
- c) a intervenção deve ter sido realizada com a mãe, o pai, os pais ou a família
- d) a intervenção deve ter sido educacional
- e) ter dados de cortisol como desfecho (ou na mãe, ou na criança ou em ambas)
- f) ter um dos objetivos do estudo como o efeito da intervenção no cortisol da mãe ou da criança

A busca feita em julho de 2018 retornou com 1.853 artigos. Após a leitura dos títulos, 56 títulos foram selecionados para a avaliação dos resumos.

Seguindo a estratégia de busca de acordo com os termos descritos acima, após a leitura dos resumos, 20 resumos ainda restaram. Por fim, após a leitura dos textos completos, 9 artigos foram selecionados. Foram excluídos os artigos que abordaram intervenções educacionais com famílias adotivas sem ter passado pelo processo legal de adoção por se tratar de uma população com características específicas (n=5), intervenções feitas no pré-natal (n=1), intervenções que não eram feitas com os pais (n=1), intervenções não-educacionais como técnicas de relaxamento e respiração (n=1), intervenções sem grupo controle (n=2) e artigo sem detalhes importantes descritos (n=1). A Figura 4 mostra um fluxograma com o passo-a-passo da seleção de artigos.

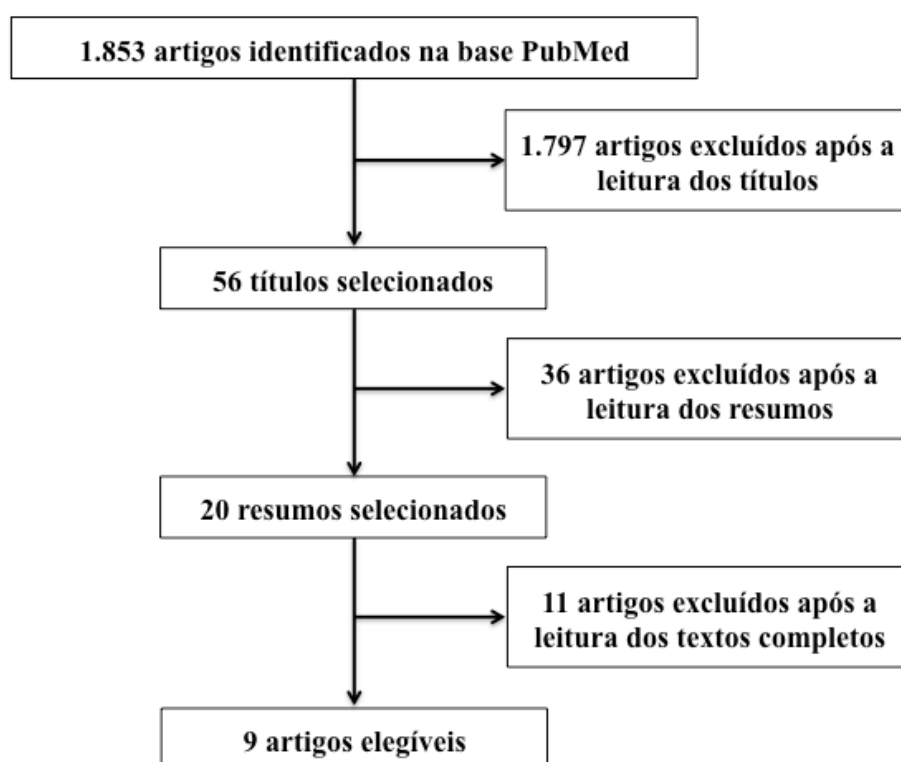


Figura 4: Fluxograma da seleção dos artigos da revisão

Os nove artigos selecionados na busca por artigos sobre o impacto de intervenções parentais sobre o cortisol estão sumarizados na Tabela 2. A maioria dos estudos foram feitos na América do Norte (66,7%) – cinco nos Estados Unidos e um no Canadá –, dois na Europa (22,2%) e um na Ásia (11,1%) entre os anos de 2007 e 2018. Os nove estudos selecionados mediram apenas o cortisol salivar, sendo que quatro deles avaliaram o cortisol infantil, três avaliaram o cortisol materno e 2 avaliaram ambos mãe-criança. O maior tamanho de amostra encontrado foi 240 famílias avaliadas e o menor estudo

em relação à amostra contou com a participação de 43 famílias. A média de idade das crianças avaliadas nos estudos foi igual a 5,4 anos, com intervalo entre 5,2 meses e 13,3 anos.

Em relação ao impacto das intervenções no cortisol, cinco estudos obtiveram resultados positivos (55,6%), ou seja, que a intervenção reduziu os níveis de cortisol – sendo que um estudo encontrou interação com idade e funcionou apenas para as crianças mais velhas -, e quatro estudos não encontraram diferença significativa entre os grupos intervenção e controle (33,3%).



Tabela 2: Descrição dos ensaios clínicos randomizados que avaliaram o efeito de intervenções parentais no cortisol materno e infantil

| Autor                            | N            | Média de idade da criança | Intervenção                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | Duração e frequência da intervenção                                                                                                                                    | Desfecho                                                                                                                                                                      | Valor do cortisol                                                                                                                                                                                         | Resultado                                                                                                                              |
|----------------------------------|--------------|---------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| País                             | (I:C)        |                           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                        |                                                                                                                                                                               |                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                                                        |
| Ano                              |              |                           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                        |                                                                                                                                                                               |                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                                                        |
| Bakermans-Kranenburg et. al (52) | 130 famílias | 28,3 meses                | Treinamento com os pais sobre desenvolvimento infantil e paternidade (disciplina, comportamento, emoções, etc).                                                                                                                                                                                                 | 6 sessões com a família de 1h30                                                                                                                                        | Cortisol salivar do filho (ao acordar, após o almoço e perto das 19h)                                                                                                         | <u>Grupo intervenção:</u><br>AUCg com DRD4 ≈ 48 nmol/l<br>AUCg sem DRD4 ≈ 68 nmol/l<br><u>Grupo controle:</u><br>AUCg com DRD4 ≈ 75 nmol/l<br>AUCg sem DRD4 ≈ 56 nmol/l                                   | A intervenção teve efeito positivo (diminuição da produção de cortisol diária) apenas para as crianças que possuem o alelo 7R do DRD4. |
| Holanda 2008                     | 66:64        |                           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                        |                                                                                                                                                                               |                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                                                        |
| Brotman et. al (53)              | 92 famílias  | 3,9 anos                  | Encontros em que os pais recebiam instruções sobre disciplina, comportamento e educação dos filhos. Nos encontros com as crianças foram ensinadas habilidades sociais. Nas interações pais-crianças, os pais foram encorajados a usar habilidades parentais. Nas visitas em casa os conteúdos foram reforçados. | 22 sessões de 90 minutos com a criança e 22 de 90 minutos com os pais + 30 minutos de interação entre pais-criança + 10 sessões quinzenais de 90 minutos em casa + 1-6 | Reatividade do cortisol salivar do filho (15 minutos antes de um desafio <sup>a</sup> e logo após terminar o desafio, e 1 semana após o desafio em casa às 7h, 12h, 16h, 20h) | <u>Grupo intervenção<sup>d</sup>:</u><br>Antes desafio: 0,08 µg/dl<br>Após desafio: 0,05 µg/dl<br><u>Grupo controle<sup>d</sup>:</u><br>Antes desafio: 0,11 µg/dl<br>Após desafio: -0,002 µg/dl<br>p>0,05 | Não houve diferença no cortisol salivar entre os grupos intervenção e controle.                                                        |
| Estados Unidos 2007              | 47:45        |                           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                        |                                                                                                                                                                               |                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                                                        |

|                                                     |                      |              |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | visitas em casa<br>durante a<br>intervenção                             |                                                                                                                                                     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |                                                                                                                                                            |
|-----------------------------------------------------|----------------------|--------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Klimes-Dougan et. al (54)<br>Estados Unidos<br>2018 | 43 famílias<br>27:16 | 8,4<br>anos  | Programa para crianças em alto risco de problemas de conduta ou abuso de drogas. Encontros educacionais e individuais para pais desenvolverem as habilidades da criança. As crianças receberam apoio escolar, instruções de como resolver problemas, ajuda na regulação do estresse, atividades criativas e de leitura. | 2-3 encontros semanais por 2 anos com as crianças + sessões com os pais | Reatividade do cortisol salivar do filho (antes do TSST, logo após o TSST, 15 minutos após o TSST, 30 minutos após o TSST e 45 minutos após o TSST) | <u>Grupo intervenção:</u><br>AUCg = 14,5 µg/dl<br><br><u>Grupo controle:</u><br>AUCg = 19,2 µg/dl<br>p>0,05                                                                                                                                                                                                                                        | As crianças do grupo controle tiveram maior aumento do cortisol pós-teste em relação ao pré-teste do que as do grupo intervenção ao final do primeiro ano. |
| Letourneau et. al (55)<br>Canadá<br>2011            | 60 famílias<br>27:33 | 5,2<br>meses | Pessoas treinadas ensinaram mães com depressão pós-parto sobre comportamentos parentais e a interagir com a criança                                                                                                                                                                                                     | 12 semanas de visitas domiciliares e telefonemas                        | Cortisol salivar da mãe e do filho (ao acordar, meio dia, meio da tarde e antes de deitar)                                                          | <u>Grupo intervenção (AUC mãe):</u><br>Linha de base = 1,8 µg/dl<br>Após seis semanas = 2,0 µg/dl<br>Pós-teste (após 12 semanas) = 2,7 µg/dl<br><br><u>Grupo controle (AUC mãe):</u><br>Linha de base = 2,1 µg/dl<br>Após seis semanas = 2,3 µg/dl<br>Pós-teste (após 12 semanas) = 2,3 µg/dl<br>p>0,05<br><u>Grupo intervenção (AUC criança):</u> | O estudo não encontrou diferenças significativas no cortisol da mãe nem da criança entre o grupo controle e o grupo intervenção.                           |

|                                                 |                      |               |                                                                                                                                                        |                                                                                                              |                                                                                             |                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                                                                       |
|-------------------------------------------------|----------------------|---------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                                 |                      |               |                                                                                                                                                        |                                                                                                              |                                                                                             | Linha de base = 4,4 µg/dl<br>Após seis semanas = 3,0 µg/dl<br>Pós-teste (após 12 semanas) = 2,7 µg/dl<br><u>Grupo controle (AUC criança):</u><br>Linha de base = 3,4 µg/dl<br>Após seis semanas = 3,3 µg/dl<br>Pós-teste (após 12 semanas) = 2,3 µg/dl<br>p>0,05 |                                                                                                                                                                                                                       |
| Ohasi et. al<br>(56)<br>Japão<br>2015           | 74 famílias<br>38:36 | 21,3<br>meses | Técnicas para melhorar a cognição do estresse e seu autogerenciamento realizadas em grupo.                                                             | 5 sessões de 2h (duração de 3 meses)                                                                         | Cortisol salivar materno (8h, 12h, 16h, 20h)                                                | <u>Grupo intervenção (AUCg):</u><br>Linha de base = 2,2 µg/dl<br>Logo pós-intervenção = 1,4 µg/dl<br>Após 1 mês = 1,5 µg/dl<br><u>Grupo controle (AUCg):</u><br>Linha de base = 1,8 µg/dl<br>Logo pós-intervenção = 2,4 µg/dl                                    | As mães no grupo intervenção tiveram menor nível de cortisol do que as mães do grupo controle.                                                                                                                        |
| O'neal el. al<br>(57)<br>Estados Unidos<br>2010 | 92 famílias<br>47:45 | 48<br>meses   | Grupos de pais sobre práticas parentais, comportamento e disciplina.<br><br>Grupos de crianças sobre habilidades sociais e lições sobre comportamento. | 22 sessões para os pais + 22 sessões para as crianças + 22 sessões para pais e crianças + 10 visitas em casa | Reatividade do cortisol salivar da mãe e do filho (antes da randomização e após um desafio) | <u>Grupo intervenção<sup>d</sup>:</u><br>Média pré-desafio (criança) = 0,07 µg/dl<br>Média pós-intervenção (criança) = 0,27 µg/dl<br>Média pré-intervenção (mãe) = 0,05 µg/dl<br><br><u>Grupo controle<sup>d</sup>:</u>                                          | Os níveis de cortisol aumentaram no grupo intervenção e diminuíram no controle. Comparando os dois grupos, aqueles indivíduos da intervenção tiveram maior nível de cortisol. Em relação aos pais, não foi encontrada |

|                                               |                        |           |                                                                                                                                                                                       |                                                                                                                                |                                                                                                                            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                              |
|-----------------------------------------------|------------------------|-----------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                               |                        |           |                                                                                                                                                                                       |                                                                                                                                |                                                                                                                            | Média pré-intervenção (criança) = 0,07 µg/dl<br>Média pós-intervenção (criança) = - 0,09 µg/dl<br>Média pré-intervenção (mãe) = 0,11 µg/dl                                                                                                                                                                                | diferença entre o nível de cortisol entre o grupo intervenção e o grupo controle. Foi encontrada uma interação entre grupo de alocação e cortisol com estímulo mãe-criança.                                  |
| Luecken et. al (58)<br>Estados Unidos<br>2015 | 240 famílias<br>164:76 | 10,8 anos | Sessões focadas em disciplina, melhora da qualidade da relação mãe-criança, diminuir conflito interparental, diminuir barreiras pai-criança, ajudar a criança a lidar com o divórcio. | 11 sessões em grupo de 1 hora e 45 minutos para as mães + 2 sessões individuais para as mães + sessões em grupo para a criança | Reatividade do cortisol salivar do filho (antes do TSST, logo após o TSST, 20 minutos após o TSST, 40 minutos após o TSST) | <u>Grupo intervenção:</u><br>Pré-teste = 2,4 nmol/l<br>Pós-teste = 2,3 nmol/l<br>20 minutos pós-teste = 2,5 nmol/l<br>40 minutos pós-teste = 2,0 nmol/l<br><u>Grupo controle:</u><br>Pré-teste = 2,5 nmol/l<br>Pós-teste = 2,5 nmol/l<br>20 minutos pós-teste = 2,6 nmol/l<br>40 minutos pós-teste = 2,1 nmol/l<br>p>0,05 | A idade foi um modificador de efeito na associação entre cortisol e o grupo de alocação. A intervenção funcionou apenas para as crianças mais velhas, onde o nível de cortisol foi menor nas quatro medidas. |
| Boyle et. al (59)<br>Reino Unido<br>2017      | 200 famílias<br>101:99 | 4,0 anos  | Terapia comportamental cognitiva (TCC) para reduzir a ansiedade e percepção das mães com filhos que tem alergia alimentar                                                             | 1 sessão de 45 minutos + 1 ligação duas semanas após a sessão + 1 visita 6                                                     | Cortisol salivar materno (10, 20 e 30 minutos após choque anafilático)                                                     | <u>Grupo intervenção<sup>c</sup>:</u><br>Média ≈ 0,0 nmol/l<br>Média ≈ 0,8 nmol/l<br>Média ≈ 1,4 nmol/l                                                                                                                                                                                                                   | O grupo intervenção reduziu os níveis de cortisol salivar materno comparado com o grupo controle.                                                                                                            |

|                                                  |                        |               |                                                                                                                      |                                    |                                                |                                                                                                                                                                                                                                    |                                                                                                                                  |
|--------------------------------------------------|------------------------|---------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                                  |                        |               |                                                                                                                      | semanas após a<br>sessão           |                                                | <u>Grupo controle<sup>c</sup>:</u><br>Média ≈ 1,0 nmol/l<br>Média ≈ -0,2 nmol/l<br>Média ≈ 0,0 nmol/l<br>p<0,05                                                                                                                    |                                                                                                                                  |
| Toth et. al<br>(60)<br>Estados<br>Unidos<br>2015 | 157<br>44/34/27:5<br>2 | 13,3<br>meses | Psicoterapia familiar ou<br>intervenção psico-educacional<br>para pais (CPP) + serviços<br>comunitários padrão (PPI) | Sessões em<br>casa por 12<br>meses | Cortisol salivar<br>materno (meio da<br>manhã) | <u>Mudança<sup>e</sup> no cortisol do grupo CPP:</u><br>0,0 (p>0,05)<br><u>Mudança<sup>e</sup> no cortisol do grupo PPI:</u><br>-0,23 (p>0,05)<br><u>Mudança<sup>e</sup> no cortisol do grupo<br/> controle:</u><br>-0,61 (p<0,05) | Não houve diferença<br>significativa no cortisol<br>basal entre o pré e o pós-<br>intervenção nos dois grupos<br>de intervenção. |

I: intervenção; C: controle; TSST: Trier Social Stress Test (3 minutos de preparação, 5 minutos de fala em público e 5 minutos de uma tarefa mental de matemática em frente a um microfone, uma filmadora e dois pesquisadores); <sup>a</sup> a criança foi até uma escola fora do seu ambiente familiar para brincar livremente por 30 minutos sem a presença dos pais; <sup>b</sup> declínio referente às medidas feitas em casa; <sup>c</sup> valores transformados pelo método Box-Cox; <sup>d</sup> valores transformados pelo método logarítmico; <sup>e</sup> mudança em relação à pré e pós intervenção.

#### 4. Justificativa

De acordo com o Instituto Americano de Estresse (AIS: *The American Institute of Stress*), o estresse é um fenômeno subjetivo e difícil de quantificar (61), uma vez que o evento estressor pode ser percebido diferentemente em cada pessoa, mas ativa o mesmo mecanismo em todos os indivíduos. (62) A ativação do eixo HPA quando eventos estressores ocorrem são importantes para o organismo, ou seja, situações específicas onde há liberação de hormônios para facilitar o corpo humano a lidar com esse momento particular. Porém, o estresse crônico resulta de exposições repetidas à eventos estressores, resultando em ativação constante no cérebro, danificando órgãos. (63)

O principal hormônio liberado após um evento estressor acontecer é chamado de cortisol, o qual está positivamente correlacionado ao estresse. A maioria dos estudos relacionados à resposta ao estresse focam nos seus efeitos agudos, contudo esse hormônio depende do ritmo circadiano de 24 horas. Então, recentemente o estresse crônico começou a ser avaliado pela medida de concentração de cortisol capilar para captar o efeito a longo prazo e seus determinantes, já que o excesso do hormônio no organismo pode ser maléfico para a saúde. (64) Como poucos estudos nessa área foram publicados, especialmente estudos de base populacional com crianças em países de baixa e média renda, é importante que cientistas e governo priorizem projetos nesse tema, já que o estresse é um possível mediador entre disciplina severa dos pais e agressão da criança. (65,66)

A primeira infância ocorre do nascimento até os 6 anos de idade e é o período em que o desenvolvimento cerebral está no seu ápice, podendo interferir na tomada de decisões e reações à emoções. (67) Este é o melhor período para agir e buscar efeitos positivos de intervenções. Para que o cérebro se desenvolva bem é importante que a criança tenha estímulos, qualidade no cuidado e interações com o ambiente, fazendo com que efeito positivo no desenvolvimento do cérebro seja duradouro. (68) Com esse propósito, o presente projeto pretende realizar uma revisão sistemática entre nível de cortisol capilar e intervenções parentais em famílias com crianças

durante a primeira infância, já que uma busca na literatura científica foi feita e nenhuma revisão abrange essa temática.

Além disso, uma intervenção com duas metodologias será avaliada nesse estudo (ACT e Conte Comigo) com crianças de baixo nível socioeconômico, e testada para avaliar se há redução no estresse crônico materno-infantil, já que o período de desenvolvimento cerebral possui maior potencial para mudanças nas crianças. Com a diminuição do estresse crônico infantil, existe uma possibilidade de diminuir o estresse crônico materno também. O ACT é uma metodologia de nove sessões de duas horas aplicada em grupos de mães onde elas recebem informações sobre desenvolvimento infantil e como criar crianças longe de violência recomendado pela OMS para países de baixa e média renda. O Conte Comigo, programa também recomendado pela OMS, é uma intervenção de oito sessões de 90 minutos onde a mãe deve compartilhar um livro com gravuras para seu filho para melhorar desfechos de linguagem e reduzir fatores de risco ligados à violência. (69)

## **5. Objetivos**

### **4.1. Objetivo geral**

- Avaliar níveis de cortisol capilar materno-infantil e seus determinantes na primeira infância.

### **4.2. Objetivos específicos**

- Descrever os níveis de cortisol capilar crônico de crianças aos quatro anos de idade e suas mães, testando a correlação entre o cortisol materno e infantil.
- Avaliar a associação entre cortisol crônico materno e infantil e os seguintes fatores: estresse geral e parental autorrelatado pelas mães e nível socioeconômico.
- Investigar o efeito de duas intervenções parentais educacionais (ACT e Conte Comigo) nos níveis de cortisol materno e infantil (aos quatro anos) e identificar qual metodologia reduzirá mais o cortisol da mãe e da criança.

- Revisar a literatura avaliando o impacto de intervenções parentais nos níveis de cortisol materno ou infantil.

## **6. Hipóteses**

- O nível de cortisol da criança terá uma associação positiva com o nível de cortisol materno.
- Quanto maior o nível socioeconômico, menor será a concentração de cortisol capilar tanto nas crianças quanto nas mães.
- Quanto maior o escore de estresse geral e parental autorrelatado, maior será a concentração de cortisol capilar tanto nas mães quanto nas crianças.
- As duas intervenções (ACT e Conte Comigo) terão impacto positivo em relação ao cortisol medido de forma biológica e por questionário, porém as mães que participarem do ACT e seus filhos irão ter níveis de cortisol menores do que os participantes do Conte Comigo.

## **7. Metodologia**

A tese será composta por dois estudos originais de diferentes delineamentos (coorte prospectiva e ensaio clínico randomizado aninhado à coorte) e por um estudo de revisão sistemática. O estudo de coorte que será avaliado faz parte das Coortes de Nascimentos de Pelotas, nas quais indivíduos são acompanhados desde o nascimento por toda a vida. Os acompanhamentos de crianças nascidas vivas nos anos de 1982, 2004, 1993 e 2015 (70–73) em Pelotas avaliam desfechos relacionados à saúde em diversos âmbitos (comportamentais, psicológicos, sociais, entre outros). Neste projeto será avaliada a coorte dos nascidos no ano de 2015 no acompanhamento dos quatro anos de idade. Aninhado à essa coorte está sendo realizado um ensaio clínico randomizado denominado Estudo PIÁ (Primeira Infância Acolhida). Os métodos de cada estudo serão abordados em subseções separadas com suas especificidades dentro dessa seção.



## 7.1. Artigo 1

### *Revisão sistemática da literatura sobre a influência de intervenções parentais no nível de cortisol materno-infantil*

Será feita uma revisão sistemática por estudos que avaliaram o impacto de intervenções educacionais parentais no cortisol materno e infantil. Uma busca foi feita em julho de 2018 e nenhuma revisão sobre o tema foi encontrada. A revisão sistemática da literatura será registrada no PROSPERO.

#### 7.3.1. Fontes de dados

Serão utilizadas as seguintes bases indexadas: PubMed, Web of Science, LILACS, Scopus, PsycINFO, CINAHL, ERIC e Google Scholar. Além disso, a lista de referências dos artigos que permaneceram ao final da seleção de artigos será analisada para que, caso algum esteja ligado ao tema, possa entrar na revisão sistemática. As referências encontradas serão importadas para o Excel a fim de facilitar a seleção dos artigos.

#### 7.3.2. Termos de busca

A busca será feita de acordo com os termos MeSH (Medical Subject Heading). A chave de busca será: (((((((((((parent\* intervention) OR parent\* training) OR parent\* program) OR parent\* education) OR maternal intervention) OR maternal training) OR maternal education) OR maternal program) OR family intervention) OR family training) OR family education) OR family program)) AND ((((((cortisol) OR HPA) OR hypothalamic pituitary adrenal axis) OR hypothalamic-pituitary-adrenocortical) OR glucocorticoid) OR hydrocortisone) AND (((((((randomized controlled trial\*) OR trial) OR intervention) OR experiment) OR random allocation) OR controlled clinical trial) OR early intervention) intervention study).

#### 7.3.3. Critérios de elegibilidade

- a) população: seres humanos
- b) delineamento: ensaio clínico randomizado
- c) a intervenção deve ter sido educacional e realizada com a mãe, o pai, os pais ou a família

- d) ter dados de cortisol como desfecho (ou na mãe, ou na criança ou em ambas) e um dos objetivos do estudo ser o efeito da intervenção no cortisol da mãe ou da criança
- e) a criança deve ser menor de 18 anos de idade

#### 7.3.4. Seleção dos estudos e apresentação dos resultados

De acordo com os termos de busca já estabelecidos, os artigos serão importados para um programa de gerenciamento de referências para excluir as duplicatas e para que o trabalho possa iniciar. A seleção dos artigos será feita por uma dupla de investigadores que vão ler os artigos por etapas (títulos, resumos e textos completos). Após o término dessa fase, os investigadores vão discutir as discordâncias e um terceiro revisor independente irá ter a decisão final se o artigo deverá ou não ser incluído na revisão sistemática. A avaliação da qualidade metodológica dos estudos será realizada de acordo com os critérios do CONSORT.

A segunda etapa do estudo será feita após a seleção final dos artigos, onde os revisores irão preencher uma planilha de extração dos dados. As inconsistências encontradas em cada planilha será revisada pela mesma pessoa que fez a decisão final da seleção dos artigos. Caso haja possibilidade e os artigos sejam homogêneos, uma metanálise será realizada e os resultados serão apresentados em *forest plots*.

## 7.2. Artigo 2

*Concentração de cortisol capilar e associação entre estresse materno-infantil medido por coleta de cabelo na Coorte de Nascimento de Pelotas de 2015.*

A quarta coorte de nascimentos de Pelotas avaliou as mães ainda no período pré-natal (ano de 2014) e, consequentemente, as crianças nascidas vivas no ano de 2015 (de 1º de janeiro até 31 de dezembro). A partir do ano de 2015, esse estudo observacional prospectivo pretende acompanhar esses indivíduos até o fim da vida, analisando exposições e desfechos na área da saúde. Até hoje, a coorte de 2015 já teve 5 acompanhamentos (Figura 5) com alta taxa de resposta em todos eles. Aninhado à essa coorte, já foram feitos

10 sub-estudos em diferentes momentos no tempo.



Figura 5: Fluxograma da Coorte de Nascimentos de 2015 de Pelotas/RS

#### 7.2.1. População-alvo e critérios de elegibilidade

A população-alvo desse estudo foram bebês nascidos vivos no ano de 2015 na zona urbana da cidade de Pelotas/RS, no bairro rural Colônia Z3 também de Pelotas/RS no bairro Jardim América da cidade de Capão do Leão (cidade emancipada de Pelotas no ano 1982). O motivo da Colônia Z3 e do Jardim América serem incluídos na amostra é para manter a comparabilidade com as outras três coortes de Pelotas.

#### 7.2.2. Logística – recrutamento da amostra perinatal

Os cinco hospitais com maternidade da cidade de Pelotas (Santa Casa de Misericórdia de Pelotas, Beneficência Portuguesa, Hospital Miguel Piltcher, Hospital Escola da Universidade Federal de Pelotas e Hospital São Francisco de Paula) foram monitorados do dia 1º de janeiro até o dia 31 de dezembro do ano de 2015, sendo que cada nascimento que acontecia era avisado à equipe do estudo. As mães que aceitaram participar do estudo eram entrevistadas algumas horas após o parto e seus bebês foram medidos e pesados.

#### 7.2.3. Logística – acompanhamento dos 4 anos

O sexto acompanhamento da Coorte de Nascimentos de Pelotas/2015 terá início em fevereiro de 2019 e irá até o final de agosto de 2019, ano em que as crianças completarão 4 anos. A coleta de dados será feita na clínica do Centro de Pesquisas Epidemiológicas.

#### 7.2.4. Operacionalização do desfecho e das exposições

##### 7.2.4.1. Desfecho:

O desfecho desse estudo será o cortisol capilar infantil (ng/mg) avaliado pela técnica de ELISA. O cortisol capilar será analisado como uma variável contínua.

#### 7.2.4.2. Exposições:

As variáveis independentes estão descritas na Tabela 3, assim como sua operacionalização e classificação. As variáveis poderão sofrer recategorizações ao longo do processo de análise do artigo original, baseados no modelo que apresenta o melhor ajuste.

Tabela 3: Variáveis independentes

| <b>Variável</b>                               | <b>Tipo de variável</b> | <b>Classificação</b>                                               |
|-----------------------------------------------|-------------------------|--------------------------------------------------------------------|
| Sexo                                          | Categórica dicotômica   | Masculino/Feminino                                                 |
| Idade                                         | Numérica discreta       | Meses completos                                                    |
| Cor do cabelo                                 | Categórica nominal      | Coletada de forma aberta, será categorizada após a coleta de dados |
| Tipo de cabelo                                | Categórica nominal      | Liso, ondulado, cacheado e crespo                                  |
| Nível socioeconômico                          | Categórica ordinal      | A/B/C/D/E                                                          |
| Uso de drogas materno                         | Categórica dicotômica   | Sim/Não                                                            |
| Uso de álcool materno                         | Numérica discreta       | Escore                                                             |
| Fumo passivo                                  | Categórica dicotômica   | Sim/Não                                                            |
| IMC                                           | Numérica contínua       | Quilogramas/m <sup>2</sup>                                         |
| Uso de anticoncepcional e outros medicamentos | Categórica dicotômica   | Sim/Não                                                            |
| Frequência de lavagem de cabelo               | Numérica discreta       | Número de dias por semana                                          |
| Tratamento capilar                            | Categórica dicotômica   | Sim/Não                                                            |

|                    |                   |        |
|--------------------|-------------------|--------|
| Pressão sistólica  | Numérica contínua | mmHg   |
| Pressão diastólica | Numérica contínua | mmHg   |
| Estresse materno   | Numérica discreta | Escore |

#### 7.2.5. Instrumentos

O instrumento que será utilizado no acompanhamento dos 4 anos da Coorte de 2015 ainda está em processo de criação. Maiores detalhes serão definidos posteriormente.

#### 7.2.6. Seleção e treinamento de entrevistadoras

A seleção das entrevistadoras começará no fim do ano de 2018 e o treinamento iniciará nos primeiros meses de 2019. Mais detalhes serão definidos posteriormente.

#### 7.2.7. Controle de qualidade

O controle de qualidade do acompanhamento dos 4 anos da Coorte de Nascimentos será feito com 10% das entrevistas. Serão selecionadas cerca de cinco questões simples e que não possuam mudanças temporais. Além disso, para o controle de qualidade da medida de cortisol capilar serão testadas algumas amostras de doadores antes de iniciar o acompanhamento.

#### 7.2.8. Plano de análise de dados

O processo de análise será feito no pacote Stata versão 12.0. (74) A análise de dados deste estudo terá uma abordagem transversal visto que o objetivo será avaliar os determinantes do cortisol capilar na criança. O desfecho será o cortisol capilar infantil. Os determinantes que serão avaliados serão sexo, cor da pele, IMC, cor do cabelo, tratamento capilar, frequência de lavagem de cabelo, tipo de cabelo, uso de medicamentos, uso de álcool e drogas materno, fumo passivo, nível socioeconômico, estresse materno e pressão arterial sistólica e diastólica (Figura 6).

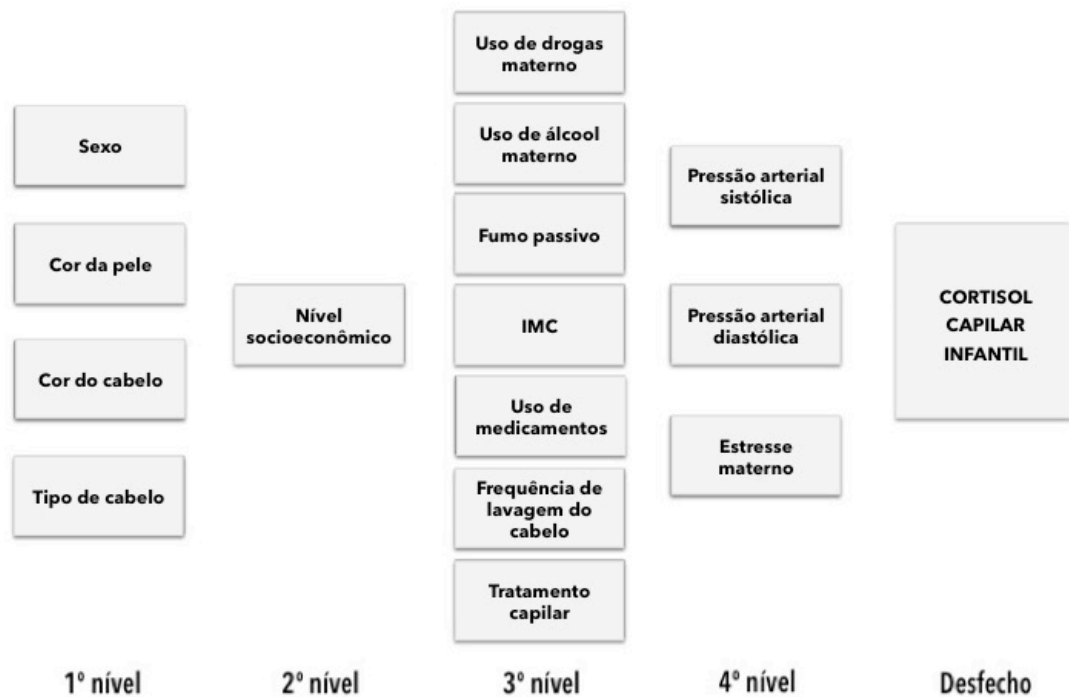


Figura 6: Plano de análise do primeiro artigo da tese

Primeiramente será feita uma análise descritiva das variáveis de exposição e de desfecho, analisando as distribuições. Em casos de variáveis que não sejam normais, transformações serão feitas para aproximar a distribuição à normalidade. Em seguida, uma análise de correlação entre o cortisol materno e infantil será realizada. Por fim, será realizada uma análise para verificar quais os determinantes do cortisol capilar na Coorte de Nascimentos de Pelotas do ano de 2015. O nível de significância adotado será de 5%. Serão excluídos dessa análise aqueles indivíduos que não tiverem dados para o desfecho.

#### 7.2.9. Aspectos Éticos

O projeto “Coorte de Nascimentos de Pelotas de 2015: a influência dos determinantes precoces nos desfechos em saúde ao longo do ciclo vital” foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética da Escola Superior de Educação Física da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), sob parecer número 522.064. Uma atualização do projeto será submetida ao Comitê de Ética em dois meses para adicionar a medidas de algumas variáveis ao estudo. Antes de cada acompanhamento, os participantes preenchem um termo de

consentimento livre e esclarecido (TCLE) com explicações de toda as etapas do momento da pesquisa que estão participando e garante confidencialidade dos dados individuais. Também são informados que a qualquer momento da pesquisa podem desistir ou negar alguma etapa.

### **7.3. Artigo 3**

*Qual o impacto de intervenções parentais (Conte Comigo e ACT) no cortisol crônico materno-infantil?*

O Estudo PIÁ (Primeira Infância Acolhida) é um estudo randomizado controlado realizado com uma sub-amostra de crianças da Coorte de Nascimentos de Pelotas de 2015 e suas mães. A intervenção terá três grupos: ACT, Conte Comigo e controle (sem intervenção).

O ACT (Programa Criando Crianças Seguras) é um programa desenvolvido pela Associação Americana de Psicologia, como um programa sem fins lucrativos, de baixo custo e de grande versatilidade cultural, tendo sido recentemente adaptado para a implementação no Brasil. Consiste em nove sessões de grupo, nas quais os 10 cuidadores (no presente estudo serão as mães) são treinados por um facilitador para compreender o desenvolvimento infantil e para criar seus filhos sem violência. O programa utiliza discussões e dramatizações para ilustrar, de forma empática e não julgadora, como lidar de forma positiva com dificuldades emocionais e comportamentais nas crianças. Baseada nas experiências do programa nos EUA, que conseguiram reduzir agressividade na criação das crianças, bem como problemas de conduta, a OMS recomenda o ACT como um programa promissor para países de baixa renda. Objetivos e conteúdos de cada sessão do ACT encontram-se no anexo.

Já o Conte Comigo é um programa desenvolvido pela Mikhulu Trust, uma organização sem fins lucrativos, na África do Sul, que ajuda pais a se instrumentalizarem para garantir um melhor desenvolvimento sócio-cognitivo e emocional para seus filhos através do compartilhamento de livros. Esse programa consiste em uma prática entre pais e filhos, cujas características centrais são conscientizar os pais sobre os interesses das crianças e engajá-los em trocas recíprocas com seus filhos. A intervenção inclui oito sessões grupais, uma por semana, composta por cinco cuidadores (no presente estudo

serão as mães) e um facilitador treinado. Cada sessão consiste na apresentação do conteúdo em slides, além de serem mostrados pequenos trechos com filmagens de um cuidador compartilhando um livro com seu filho, a fim de ilustrar o que está sendo ensinado.

Os participantes do CC são incentivados a contribuir para a discussão sobre o que estão vendo e o que estão aprendendo e a relevância disso para suas vidas. Sempre, no início de cada sessão, é feita uma revisão inicial dos tópicos abordados nas sessões anteriores, e os participantes contam como foi o compartilhamento de livros em casa. No final de cada sessão, é apresentado um resumo dos principais aspectos trabalhados. As apresentações normalmente duram cerca de uma hora, e são seguidas por um momento em que os cuidadores praticam o que aprenderam em uma sessão individual com seus filhos, com duração de 5 a 10 minutos, observada pelo facilitador. Esta é uma oportunidade para o facilitador apoiar e encorajar o cuidador, bem como modelar um bom comportamento, caso necessário.

Cada sessão está associada a um livro específico que o cuidador e a criança levam para casa, com a instrução de que eles devem tentar manter um horário regular todos os dias para compartilhar o livro. Treinar para o compartilhamento sensível de livros é facilmente adaptável do ponto de vista cultural. Estudos em outros países sugerem que esta prática apresenta efeitos positivos de médio e longo prazo nos resultados cognitivos das crianças, incluindo o desenvolvimento da linguagem e da atenção, contribuindo para a prontidão escolar. Ainda que estes sejam fatores-chave para proteção infantil contra agressões, nenhum estudo examinou os efeitos deste programa para tal problema. Isto será testado no estudo proposto, trazendo a prática do compartilhamento de livros para o Brasil pela primeira vez. Conteúdos abordados em cada uma das sessões do Conte Comigo encontram-se no anexo.

#### 7.2.1. População-alvo e critérios de elegibilidade

A população-alvo será composta por um mínimo de 330 crianças da coorte, atualmente com 2-3 anos, e suas mães.



A primeira etapa de critérios de exclusão será feita no banco de dados da Coorte de Nascimentos de Pelotas de 2015 quando as crianças tinham dois anos. Nessa fase os critérios de elegibilidade das crianças eram:

- estar entre os 30% mais pobres aos dois anos da coorte
- não pertencer aos 40% das crianças com menor índice de agressividade aos dois anos da coorte
- não estar nos 10% menos desenvolvidos pela avaliação do INTER-NDA
- não ter irmão gêmeo vivo
- não ser cego, surdo ou mudo
- ter uma mãe que não é cega, surda ou muda
- não ter problemas de saúde graves (autismo, síndromes, atrasos mentais)
- ter sido levada pela mãe no acompanhamento dos 2 anos da coorte

A segunda etapa dos critérios de elegibilidade será aplicada no convite às mães para participar do estudo. Foram incluídas aquelas mães que:

- cuidavam dos filhos pelo menos 4 dias por semana
- tinham disponibilidade para participar das sessões caso fossem sorteadas para os grupos de intervenção

#### 7.2.2. Logística e trabalho de campo

As intervenções estão ocorrendo desde junho e tem previsão de término em novembro, quando as crianças terão aproximadamente três anos de idade. A coleta de cortisol capilar das mães e das crianças serão resultados-chave avaliados tanto na linha de base quanto no acompanhamento dos 4 anos da Coorte de Nascimentos de 2015. A equipe contará com recepcionistas, entrevistadoras de mães, entrevistadoras de crianças, recreacionistas, secretárias (agendamento, logística e administrativa) e auxiliares de laboratório.

Primeiramente, foi realizado um mapeamento dos endereços das crianças elegíveis aos estudo PIÁ. Após os endereços serem localizados, foram agrupados por proximidade em 11 setores censitários urbanos no município (Figura 7). Em cada um destes setores, foi feita uma listagem de

todas as crianças que neles residirem com uma ordem referente à proximidade com o local da intervenção. A criança no topo da lista foi a primeira a ser convidada a participar do estudo e, por ordem de colocação foram chamadas crianças até totalizar 40 em cada setor participando no estudo.

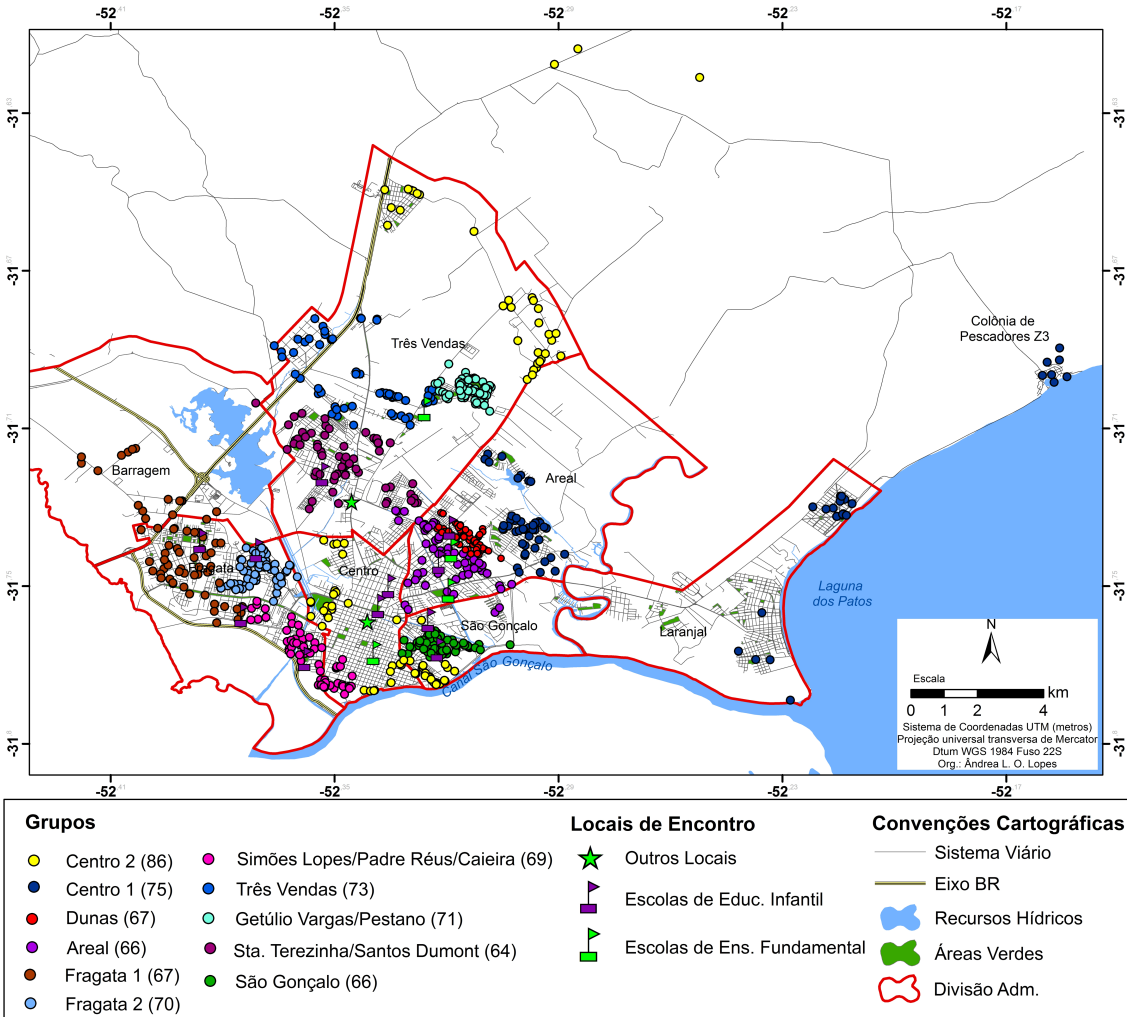


Figura 7: Mapeamento das crianças elegíveis para o estudo PIÁ por região

Então, um membro da equipe de pesquisa está visitando as famílias recrutadas, a fim de explicar o estudo e convidá-las a visitar o Centro de Pesquisas para receber mais informações sobre o estudo e participar na primeira avaliação. Subsequentemente a assinatura do Termo de Consentimento Livre Esclarecido (TCLE) e a realização da avaliação, a mãe é sorteada aleatoriamente para o grupo do qual deverá participar no Centro de Pesquisas Epidemiológicas (CPE). Das 40 famílias convidadas para participar do estudo por setor, no mínimo 30 deverão comparecer à clínica ou serão feitos reagendamentos e recrutamento de novas famílias.

As avaliações dos participantes no estudo serão realizadas no Centro de Pesquisas Epidemiológicas em três momentos: a linha de base a partir de junho de 2018 (antes das intervenções), imediatamente após intervenções, a partir de setembro de 2018 e aproximadamente 6-9 meses durante o acompanhamento dos 4 anos da Coorte de Nascimentos de 2015 (entre os meses de fevereiro e agosto de 2019). Nas duas primeiras avaliações, um questionário de cerca de uma hora será aplicado para a mãe e testes com cerca de uma hora de duração serão feitos com a criança. Já durante a última avaliação, o questionário do estudo PIÁ será aplicado juntamente com o do acompanhamento dos 4 anos.

Ao final da entrevista, uma das supervisoras do estudo irá fazer o sorteio onde cada participante terá a probabilidade de ser sorteada para 3 grupos: 1) participar do grupo de ACT; 2) participar do grupo de Conte Comigo; 3) grupo controle (não participará de nenhuma intervenção e seguirá com a rotina). A alocação dos indivíduos será feita pelo processo de minimização. Esse método consiste em um balanceamento entre os grupos de acordo com determinadas variáveis e cada participante leva em consideração as características de todos já alocados. (75) O programa que será usado no estudo para realizar a minimização será o MINIM. (76)

As variáveis usadas para fazer o balanceamento tinham peso 1,0 e foram idade em duas categorias (<3 anos e ≥3 anos), sexo (masculino e feminino), escore de agressão da criança aos 2 anos (<4 e ≥4) e escore de disciplina parental severa aos 2 anos da criança (<6 e ≥6). A probabilidade dos indivíduos entrarem em cada grupo era 33,3%.

Após esta etapa, que está ocorrendo até duas semanas antes de a intervenção iniciar, as mães alocadas para os grupos de intervenção estão sendo contatadas por telefone para receber informações sobre o local e horário de realização dos grupos. A aplicação das intervenções está sendo realizada por profissionais da prefeitura (profissionais do Programa Primeira Infância Melhor aplicarão o programa Conte Comigo e orientadoras das escolas infantis aplicarão o ACT), sob supervisão da equipe de pesquisa. São oito aplicadoras de Conte Comigo e nove aplicadoras de ACT, totalizando 30 pessoas na equipe intervenção. O Conte Comigo não exige um nível de escolaridade mínimo, mas para o ACT as aplicadoras devem ter formação em ensino

superior. Durante a etapa do trabalho de campo, um supervisor da equipe de pesquisa realizará encontros semanais com as aplicadoras das intervenções, a fim de acompanhar o andamento do trabalho e orientar em caso de dúvidas. Durante essa fase do estudo, uma equipe estará no Centro de Pesquisas Epidemiológicas controlando a frequência das mães na intervenção, ligando para avisar as mães que uma van estará disponível para levá-la ao local da intervenção no primeiro encontro, lembrar dos próximos encontros e fazer os reagendamentos em caso de faltas.

#### 7.2.3. Operacionalização do desfecho e da exposição

O desfecho desse estudo será a concentração de cortisol capilar materno e infantil extraído a partir de cabelos coletados da região posterior da cabeça, conhecida como coroa, a variável será avaliada de forma contínua. A média de crescimento capilar é 1cm por mês, portanto para avaliar três meses de concentração de cortisol capilar, o desfecho será baseado no corte de 3cm de cabelo. (77,78) A exposição será a adesão ao ACT, CC ou se não recebeu nenhuma intervenção.

#### 7.2.4. Coleta da amostra biológica

Está sendo coletado amostras de cabelo das crianças e de suas mães para medir as concentrações de cortisol acumulado nos últimos três meses. O cabelo deverá estar seco, e as amostras serão coletadas com auxílio de uma tesoura a partir da região do topo posterior da cabeça, com o corte junto ao couro cabeludo. Os cabelos, assim que coletados, são armazenados em envelopes, identificados por código de barras, a temperatura ambiente, no biorrepositório previsto para a coorte de nascimentos de Pelotas de 2015. O protocolo para a coleta do material biológico está no anexo B1. O processamento das amostras, extração do cortisol e quantificação seguirão protocolo padronizado.

O cortisol nas amostras de cabelo será medido usando um kit de ELISA (ensaio de imunoabsorção enzimática) para cortisol salivar. As análises serão realizadas por uma equipe treinada. Em mais detalhes, os 3 cm de cada amostra de cabelo mais proximais ao couro cabeludo serão cortados com

tesoura, pesados e lavados com isopropanol. Após lavagem e secagem do álcool, as amostras serão pulverizadas. O pó de cabelo moído será transferido e solubilizado em álcool 100% e deixado secar à temperatura ambiente por 48h por duas vezes para que o cortisol seja extraído. Após o procedimento de extração, sobrenadante será reconstituído com a solução diluente de ensaio de cortisol salivar. As amostras serão, então, quantificadas utilizando a técnica de ELISA em duplicata. Será utilizado o kit de imunoensaio de alta sensibilidade para cortisol salivar (Cat # 1-3002, Salimetrics, Pensilvânia), seguindo as instruções do fabricante. Os níveis de cortisol são expressos em ng/mg de cabelo.

#### 7.2.5. Seleção e treinamento de entrevistadoras

A divulgação para seleção de entrevistadoras no Facebook tinha critérios de elegibilidade, os quais eram ser do sexo feminino e ter ensino médio completo. Aquelas interessadas foram chamadas para uma entrevista com uma psicóloga e, as selecionadas nessa fase, foram submetidas a um treinamento de aproximadamente 40 horas. No treinamento foram discutidos e treinados todos os instrumentos que estão sendo utilizados na pesquisa. O treinamento prático foi realizado em creches públicas da cidade com crianças não-pertencentes à Coorte de Nascimentos de 2015. Ao fim do treinamento, uma prova prática foi feita junto ao estudo piloto onde uma supervisora acompanhou a entrevistadora em uma aplicação com uma família não pertencente à Coorte de Nascimentos de 2015. As supervisoras do estudo selecionaram 10 entrevistadoras a partir do desempenho na entrevista, treinamento e prova prática. Algumas das pessoas que não foram selecionadas ficaram de suplente caso alguma entrevistadora desista da vaga.

#### 7.2.6. Controle de qualidade

Para manter a qualidade desse estudo, diversas estratégias serão adotadas:

a) Entrevistadoras:

- Reuniões frequentes serão feitas com as entrevistadoras para esclarecer possíveis dúvidas durante o trabalho de campo e um

retreinamento será feito entre a coleta de linha de base e a coleta imediatamente após a intervenção.

- Um controle de qualidade será feito com 100% das mães ao final da entrevista e antes da alocação dos participantes para os grupos. Quatro perguntas simples e sem mudança temporal abrupta serão feitas. As questões selecionadas para serem refeitas para a mãe foram referentes ao estado civil materno, se a mãe sabia de alguma lei que proíba o abuso infantil, se o filho frequenta creche ou escola e se a afirmativa “Seu filho não suporta esperar; quer tudo imediatamente” era falso, mais ou menos verdadeiro ou verdadeiro. Análises de concordância geral e estratificadas por entrevistadora serão realizadas semanalmente e discutidas em reunião da coordenação.
- Quanto ao cegamento, as entrevistadoras não saberão para qual grupo que as mães serão sorteadas.

b) Corte de cabelo:

- Para garantir a qualidade do corte de cabelo, uma supervisora do laboratório irá acompanhar diariamente o processo, além de analisar as amostras capilares no final do dia. Em casos difíceis de coletar o cabelo (exemplo: cabelos muito curtos) a supervisora do laboratório irá auxiliar na coleta. Na análise laboratorial do cortisol, os experimentos serão avaliados em duplicata.

c) Participantes:

- Após as intervenções serem entregues às mães, uma análise será feita para saber se as mães do grupo controle foram contaminadas com a intervenção pelo fato de morarem próximas àquelas que foram designadas para os grupos de ACT ou CC.

d) Facilitadoras:

- Antes de iniciar a aplicação da intervenção do ACT, as entrevistadoras fizeram um estudo piloto com as 9 sessões em crianças que não participarão do estudo PIÁ. Além disso, a sexta sessão será filmada e enviada para uma especialista na intervenção que irá avaliar os vídeos.
- Uma das supervisoras do estudo ficará responsável por ter reuniões frequentes com as facilitadoras do grupo ACT e outra pessoa irá ser a referência do grupo CC. Elas irão controlar a fidelidade das facilitadoras,

ou seja, se estão realizando os procedimentos da maneira correta.

e) Adesão:

- Uma ligação será feita para as mães um dia antes do encontro para garantir melhor adesão nos grupos.
- O controle de frequência dos participantes da intervenção será realizado diariamente, permitindo o reagendamento para melhorar a adesão ao estudo.

#### 7.2.7. Plano de análise de dados

As análises estatísticas serão feitas de duas formas: a) análise por intenção de tratar (todas os pares de mãe-criança serão analisados independente da adesão ao protocolo do estudo) e b) análise por protocolo (serão analisados apenas os pares mãe-criança que tiveram uma adesão mínima ao protocolo de intervenção). Primeiramente será feita uma análise descritiva das variáveis de exposição e de desfecho e, em casos de variáveis que não tenham distribuição normal, transformações serão feitas. O segundo passo será verificar que os grupos não são diferentes estatisticamente para estabelecer se o resultado apresentado terá que controlar para fatores de confusão. Por fim, a variável de desfecho será comparada entre os grupos intervenção e controle e o resultado do antes e depois de cada pessoa. O nível de significância adotado será de 5%. A análise de dados será feita no pacote Stata versão 12.0. (74)

#### 7.2.8. Aspectos Éticos

O projeto “Avaliação de duas intervenções com pais, focadas na melhoria das condições de desenvolvimento na primeira infância e prevenção da violência em uma cidade de porte médio do sul do Brasil” foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), sob parecer número 2.773.473. Antes de cada acompanhamento, os participantes preencherão um termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) com explicações de toda as etapas do momento da pesquisa que estarão participando, garantindo confidencialidade dos dados individuais. Também serão informados que a qualquer momento da pesquisa podem desistir ou negar alguma etapa. As amostras de cabelo serão

depositadas no biorrepositório da Coorte de 2015, localizado no Centro de Pesquisas Epidemiológicas da Universidade Federal de Pelotas.

É possível que, durante as intervenções, surja algum desconforto em determinados participantes devido à mobilização de emoções e à memória de experiências ou situações vividas relacionadas à violência. As facilitadoras dos grupos de intervenção serão pessoas especializadas no trabalho com crianças e famílias e, sendo assim, consideradas aptas para prestar suporte emocional aos participantes no momento da intervenção. No entanto, se houver uma ativação emocional maior do que a prevista durante a intervenção, a psicóloga da equipe de pesquisa se encarregará de avaliar o caso e fazer seu encaminhamento para um serviço de atenção à saúde mental, havendo necessidade. Nos casos em que houver indicativo de violência intrafamiliar, uma entrevista devolutiva também será realizada pela psicóloga com a mãe ou o cuidador da criança, a fim de que sejam feitos os devidos encaminhamentos aos órgãos de assistência social competentes.



#### 7.4. Cronograma

|                         | 2017  | 2018 |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   | 2019 |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   | 2020 |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |  |
|-------------------------|-------|------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|--|
| MESES                   | J – D | J    | F | M | A | M | J | J | A | S | O | N | D | J    | F | M | A | M | J | J | A | S | O | N | D | J    | F | M | A | M | J | J | A | S | O | N |  |
| Trabalho de campo       |       |      |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |      |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |      |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |  |
| Análises laboratoriais  |       |      |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |      |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |      |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |  |
| Plano de trabalho       |       |      |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |      |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |      |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |  |
| Revisão de literatura   |       |      |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |      |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |      |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |  |
| Qualificação do projeto |       |      |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |      |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |      |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |  |
| Correções do projeto    |       |      |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |      |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |      |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |  |
| Prova de qualificação   |       |      |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |      |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |      |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |  |
| Estágio de doutorado    |       |      |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |      |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |      |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |  |
| Artigo 1                |       |      |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |      |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |      |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |  |



## **8. Financiamento**

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

## 9. Referências

1. Santos AM, Castro JJ de. Stress. *Análise Psicológica*. 1998;4(16):675–90.
2. Selye H. Stress, a tensão da vida. São Paulo: Ibrasa - Instituição Brasileira de Difusão Cultural; 1959.
3. Busnello F de B, Schaefer LS, Kristensen CH. Eventos estressores e estratégias de coping em adolescentes: implicações na aprendizagem. *Psicologia Escolar e Educacional*. 2009;13(2):315–23.
4. Lipp MEN, Malagris LEN. O stress emocional e seu tratamento. In: *Psicoterapias cognitivo-comportamentais: um diálogo com a psiquiatria*. Porto Alegre: Artmed; 2001. p. 475–90.
5. Gunnar M, Quevedo K. The Neurobiology of Stress and Development. *Annual Review of Psychology*. 2007;58(1):145–73.
6. Naldi L, Chatenoud L, Linder D, Belloni Fortina A, Peserico A, Virgili AR, et al. Cigarette Smoking, Body Mass Index, and Stressful Life Events as Risk Factors for Psoriasis: Results from an Italian Case–Control Study. *Journal of Investigative Dermatology*. 2005;125(1):61–7.
7. Inoue N. Stress and Atherosclerotic Cardiovascular Disease. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis*. 2014;21(5):391–401.
8. Dedovic K, Ngiam J. The cortisol awakening response and major depression: examining the evidence. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*. 2015;11:1181-9.
9. Sinha R, Jastreboff AM. Stress as a Common Risk Factor for Obesity and Addiction. *Biological Psychiatry*. 2013;73(9):827–35.
10. Bangerter LR, Liu Y, Kim K, Zarit SH, Birditt KS, Fingerman KL. Everyday Support to Aging Parents: Links to Middle-Aged Children’s Diurnal Cortisol and Daily Mood. *The Gerontologist*. 2017;0(0)1-9.
11. Sauvé B, Koren G, Walsh G, Tokmakejian S, Van Uum SH. Measurement of cortisol in human Hair as a biomarker of systemic exposure. *Clinical & Investigative Medicine*. 2007;30(5):183-91.

12. Vanaelst B, De Vriendt T, Huybrechts I, Rinaldi S, De Henauw S. Epidemiological approaches to measure childhood stress: Measuring childhood stress. *Paediatric and Perinatal Epidemiology*. 2012;26(3):280–97.
13. Stalder T, Kirschbaum C. Analysis of cortisol in hair – State of the art and future directions. *Brain, Behavior, and Immunity*. 2012;26(7):1019–29.
14. Tarullo AR, St. John AM, Meyer JS. Chronic stress in the mother-infant dyad: Maternal hair cortisol, infant salivary cortisol and interactional synchrony. *Infant Behavior and Development*. 2017;47:92–102.
15. Letourneau N, Watson B, Duffett-Leger L, Hegadoren K, Tryphonopoulos P. Cortisol patterns of depressed mothers and their infants are related to maternal–infant interactive behaviours. *Journal of Reproductive and Infant Psychology*. 2011;29(5):439-59.
16. Philbrook LE, Hozella AC, Kim B, Jian N, Shimizu M, Teti DM. Maternal emotional availability at bedtime and infant cortisol at 1 and 3 months. *Early Human Development*. 2014;90(10):595-605.
17. Chrousos GP. The concepts of stress and stress system disorders. Overview of physical and behavioral homeostasis. *JAMA: The Journal of the American Medical Association*. 1992;267(9):1244–52.
18. Kyrou I, Tsigos C. Stress hormones: physiological stress and regulation of metabolism. *Current Opinion in Pharmacology*. 2009;9(6):787–93.
19. McEwen BS, Seeman T. Protective and Damaging Effects of Mediators of Stress: Elaborating and Testing the Concepts of Allostasis and Allostatic Load. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1999;896(1):30–47.
20. Lee DY, Kim E, Choi MH. Technical and clinical aspects of cortisol as a biochemical marker of chronic stress. *BMB Reports*. 2015;48(4):209–16.
21. Lowe JS, Anderson PG, Stevens A. Stevens & Lowe’s human histology. Fourth edition. Philadelphia, PA: Elsevier/Mosby; 2015. 429 p.

22. Costanzo LS. Fisiologia: Revisão e questões comentadas. 6º ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2018.
23. Guillems TG, Edwards L. Chronic Stress and the HPA Axis: Clinical Assessment and Therapeutic Considerations. 2010;9(2):1-12.
24. le Roux CW, Chapman GA, Kong WM, Dhillon WS, Jones J, Alaghband-Zadeh J. Free Cortisol Index Is Better Than Serum Total Cortisol in Determining Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Status in Patients Undergoing Surgery. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 2003;88(5):2045–8.
25. Mendel CM. The Free Hormone Hypothesis: A Physiologically Based Mathematical Model\*. Endocrine Reviews. 1989;10(3):232–74.
26. Wajchenberg BL, Lerario AC, Betti RTB. Tratado de Endocrinologia Clínica. 2º ed. São Paulo: AC Farmacêutica; 2014. 804 p.
27. Mayo Clinic. TEST ID: CORT - Cortisol, Serum [Internet]. Mayo Clinic - Mayo Medical Laboratories. [citado 16 de agosto de 2018]. Disponível em: [www.mayomedicallaboratories.com](http://www.mayomedicallaboratories.com)
28. Mayo Clinic. Test ID: SALCT - Cortisol, Saliva [Internet]. Mayo Clinic - Mayo Medical Laboratories. [citado 16 de agosto de 2018]. Disponível em: [www.mayomedicallaboratories.com](http://www.mayomedicallaboratories.com)
29. Mayo Clinic. Test ID: CORTU - Cortisol, Free, 24 hour, Urine [Internet]. Mayo Clinic - Mayo Medical Laboratories. [citado 16 de agosto de 2018]. Disponível em: [www.mayomedicallaboratories.com](http://www.mayomedicallaboratories.com)
30. Herbert J, Goodyer IM, Grossman AB, Hastings MH, de Kloet ER, Lightman SL, et al. Do Corticosteroids Damage the Brain? Journal of Neuroendocrinology. 2006;18(6):393–411.
31. Šupe-Domić D, Milas G, Drmić Hofman I, Rumora L, Martinović Klarić I. Daily salivary cortisol profile: Insights from the Croatian Late Adolescence Stress Study (CLASS). Biochemia Medica. 2016;26(3):408–20.
32. Adam EK, Kumari M. Assessing salivary cortisol in large-scale, epidemiological research. Psychoneuroendocrinology. 2009;34(10):1423–36.

33. Fekedulegn DB, Andrew ME, Burchfiel CM, Violanti JM, Hartley TA, Charles LE, et al. Area Under the Curve and Other Summary Indicators of Repeated Waking Cortisol Measurements: Psychosomatic Medicine. 2007;69(7):651–9.
34. Silva ML, Mallozi MC, Ferrari GF. Salivary cortisol to assess the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in healthy children under 3 years old. *Jornal de Pediatria*. 2007;83(2):121-6
35. Rosmalen JGM, Oldehinkel AJ, Ormel J, de Winter AF, Buitelaar JK, Verhulst FC. Determinants of salivary cortisol levels in 10–12 year old children; a population-based study of individual differences. *Psychoneuroendocrinology*. 2005;30(5):483–95.
36. Rao MN, Blackwell T, Redline S, Punjabi NM, Barrett-Connor E, Neylan TC, et al. Association between Sleep Duration and 24-Hour Urine Free Cortisol in the MrOS Sleep Study. Xia Y, organizador. *PLoS ONE*. 2013;8(9):e75205.
37. Roelfsema F, van Heemst D, Iranmanesh A, Takahashi P, Yang R, Veldhuis JD. Impact of age, sex and body mass index on cortisol secretion in 143 healthy adults. *Endocrine Connections*. 2017;6(7):500–9.
38. Rasmuson T, Ljungberg B, Grankvist K, Jacobsen J, Olsson T. Increased Serum Cortisol Levels are Associated with High Tumour Grade in Patients with Renal Cell Carcinoma. *Acta Oncologica*. 2001;40(1):83–7.
39. Wu H, Zhao Z, Stone WS, Huang L, Zhuang J, He B, et al. Effects of sleep restriction periods on serum cortisol levels in healthy men. *Brain Research Bulletin*. 2008;77(5):241–5.
40. Mu D-L, Wang D-X, Li L-H, Shan G-J, Li J, Yu Q-J, et al. High serum cortisol level is associated with increased risk of delirium after coronary artery bypass graft surgery: a prospective cohort study. *Critical Care*. 2010;14(6):R238.
41. Mu D-L, Li L-H, Wang D-X, Li N, Shan G-J, Li J, et al. High Postoperative Serum Cortisol Level Is Associated with Increased Risk of Cognitive Dysfunction Early after Coronary Artery Bypass Graft Surgery: A Prospective Cohort Study. Sun J, organizador. *PLoS ONE*. 2013;8(10):e77637.

42. Jackson SE, Kirschbaum C, Steptoe A. Hair cortisol and adiposity in a population-based sample of 2,527 men and women aged 54 to 87 years: Hair Cortisol and Adiposity in a Population Sample. *Obesity*. 2017;25(3):539-44.
43. Gerber M, Endes K, Brand S, Herrmann C, Colledge F, Donath L, et al. In 6- to 8-year-old children, hair cortisol is associated with body mass index and somatic complaints, but not with stress, health-related quality of life, blood pressure, retinal vessel diameters, and cardiorespiratory fitness. *Psychoneuroendocrinology*. 2017;76:1–10.
44. Vaghri Z, Guhn M, Weinberg J, Grunau RE, Yu W, Hertzman C. Hair cortisol reflects socioeconomic factors and hair zinc in preschoolers. *Psychoneuroendocrinology*. 2013;38(3):331-40.
45. Veldhorst MA, Noppe G, Jongejan MH, Kok CB, Mekic S, Koper JW, van Rossum EF, van der Akker EL. Increased scalp hair cortisol concentrations in obese children. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014;99(1):285-90.
46. Henley P, Jahedmotlagh Z, Thomson S, Hill J, Darnell R, Jacobs D, Johnson J, Williams NC, Williams RM, Van Uum S, Bend JR, Koren G. Hair cortisol as a biomarker of stress among a first nation in Canadá. *Therapeutic Drug Monitoring*. 2013;35(5):595-9.
47. Abdulateef DS, Mahwi, TO. Assessment of hair cortisol in euthyreoi, hypothyreoid and subclinical hypothyreoid subjects. *Endocrine*. 2018. No prelo.
48. Abell JG, Stalder T, Ferrie JE, Shipley MJ, Kirschbaum C, Kivimaki M, Kumari M. Assessing cortisol from hair samples in a large observational cohort: the Whitehall II study. *Psychoneuroendocrinology*. 2016;73:148-56.
49. Stalder T, Steudte-Schmiedgen S, Alexander N, Klucken T, Vater A, Wichmann S, et al. Stress-related and basic determinants of hair cortisol in humans: A meta-analysis. *Psychoneuroendocrinology*. 2017;77(7):261–74.
50. Dettenborn L, Tietze A, Kirschbaum C, Stalder T. The assessment of cortisol in human hair: associations with sociodemographic variables and potential confunders. *Stress*. 2012;15(6):578-88.



51. Gray NA, Dhana A, Van Der Vyver L, Van Wyk J, Khumalo NP, Stein DJ. Determinants of hair cortisol concentration in children: A systematic review. *Psychoneuroendocrinology*. 2018;87:204–14.
52. Bakermans-Kranenburg MJ, Van IJzendoorn MH, Mesman J, Alink LRA, Juffer F. Effects of an attachment-based intervention on daily cortisol moderated by dopamine receptor D4: A randomized control trial on 1- to 3-year-olds screened for externalizing behavior. *Development and Psychopathology*. 2008;20(3):805-20.
53. Brotman LM, Gouley KK, Huang K-Y, Kamboukos D, Fratto C, Pine DS. Effects of a Psychosocial Family-Based Preventive Intervention on Cortisol Response to a Social Challenge in Preschoolers at High Risk for Antisocial Behavior. *Archives of General Psychiatry*. 2007;64(10):1172-9.
54. Klimes-Dougan B, Klingbeil D, Hourri A, Cullen K, Gunlicks-Stoessel M, August G. A Pilot Study of Stress System Activation in Children Enrolled in a Targeted Prevention Program: Implications for Personalization. *International Journal of Molecular Sciences*. 2018;19(2):361-8.
55. Letourneau N, Stewart M, Dennis C-L, Hegadoren K, Duffett-Leger L, Watson B. Effect of home-based peer support on maternal-infant interactions among women with postpartum depression: A randomized, controlled trial. *International Journal of Mental Health Nursing*. 2011;20(5):345–57.
56. Ohashi J, Katsura T. The effects of coaching on salivary cortisol stress marker in mothers with young children, a randomized controlled trial. *Journal of Rural Medicine*. 2015;10(1):20–8.
57. O'Neal CR, Brotman LM, Huang K-Y, Gouley KK, Kamboukos D, Calzada EJ, et al. Understanding Relations Among Early Family Environment, Cortisol Response, and Child Aggression via a Prevention Experiment. *Child Development*. 2010;81(1):290–305.
58. Luecken LJ, Hagan MJ, Mahrer NE, Wolchik SA, Sandler IN, Tein J-Y. Effects of a prevention program for divorced families on youth cortisol reactivity 15 years later. *Psychology & Health*. 2015;30(7):751–69.

59. Boyle RJ, Umasunthar T, Smith JG, Hanna H, Procktor A, Phillips K, et al. A brief psychological intervention for mothers of children with food allergy can change risk perception and reduce anxiety: Outcomes of a randomized controlled trial. *Clinical & Experimental Allergy*. 2017;47(10):1309–17.
60. Toth SL, Sturge-Apple ML, Rogosch FA, Cicchetti D. Mechanisms of change: Testing how preventative interventions impact psychological and physiological stress functioning in mothers in neglectful families. *Development and Psychopathology*. 2015;27(4pt2):1661–74.
61. The American Institute of Stress. What is stress? [Internet]. [citado 16 de agosto de 2018]. Disponível em: [www.stress.org](http://www.stress.org)
62. Center for Studies on Human Stress. Recipe for stress [Internet]. Center for Studies on Human Stress. [citado 16 de agosto de 2018]. Disponível em: [www.humanstress.ca](http://www.humanstress.ca)
63. Center for Studies on Human Stress. Acute vs. Chronic Stress [Internet]. Center for Studies on Human Stress. [citado 16 de agosto de 2018]. Disponível em: [www.humanstress.ca](http://www.humanstress.ca)
64. Wester VL, van Rossum EFC. Clinical applications of cortisol measurements in hair. *European Journal of Endocrinology*. 2015;173(4):M1–10.
65. Knerr W, Gardner F, Cluver L. Improving Positive Parenting Skills and Reducing Harsh and Abusive Parenting in Low- and Middle-Income Countries: A Systematic Review. *Prevention Science*. 2013;14(4):352–63.
66. Moffitt TE. Adolescence-Limited and Life-Course-Persistent Antisocial Behavior: A Developmental Taxonomy. *Psychological Review*. 1993;100(4):674-701.
67. Giedd JN, Blumenthal J, Jeffries NO, Castellanos FX, Liu H, Zijdenbos A, et al. Brain development during childhood and adolescence: a longitudinal MRI study. *Nature Neuroscience*. 1999;2(10):861–3.
68. Young ME. Do Desenvolvimento da Primeira Infância ao Desenvolvimento Humano. São Paulo: Fundação Maria Cecília Souto Vidigal; 2010. p. 1-440.

69. Murray J, Santos IS, Dâmaso A, Murray L, Arteche A, Tovo-Rodrigues L, Cruz S, Anselmi L, Martins R, Altafim E, Soares T, Andriotti MG, Gonzales A, Oliveira I, Silveira MF, Cooper P. The Effects of Two Early Parenting Interventions on Child Aggression and Risk for Violence in Brazil (The PIÁ Trial): Protocol for a Randomised Controlled Trial. *Trials*. 2018. No prelo.
70. Victora CG, Barros FC. Cohort Profile: The 1982 Pelotas (Brazil) Birth Cohort Study. *International Journal of Epidemiology*. 2006;35(2):237–42.
71. Victora CG, Hallal PC, Araujo CL, Menezes AM, Wells JC, Barros FC. Cohort Profile: The 1993 Pelotas (Brazil) Birth Cohort Study. *International Journal of Epidemiology*. 1º de agosto de 2008;37(4):704–9.
72. Santos IS, Barros AJ, Matijasevich A, Domingues MR, Barros FC, Victora CG. Cohort Profile: The 2004 Pelotas (Brazil) Birth Cohort Study. *International Journal of Epidemiology*. 2011;40(6):1461–8.
73. Hallal PC, Bertoldi AD, Domingues MR, Silveira MF da, Demarco FF, da Silva ICM, Barros FC, Victora CG, Bassani DG. Cohort Profile: The 2015 Pelotas (Brazil) Birth Cohort Study. *International Journal of Epidemiology*. 2017;0(0):1-9.
74. College Station. Stata Statistical Software: Release 12. TX: StataCorp; 2012.
75. Altman DG, Bland JM. Treatment allocation by minimisation. *British Medical Journal*. 2015;330:1.
76. Evans S, Royston P, Day S. Minim: Allocation by minimisation in clinical trials [Internet]. Disponível em: <http://www.users.york.ac.uk/~mb55/guide/minim.htm>
77. Dettenborn L, Tietze A, Kirschbaum C, Stalder T. The assessment of cortisol in human hair: Associations with sociodemographic variables and potential confounders. *Stress*. 2012;15(6):578–88.
78. Wennig R. Potential problems with the interpretation of hair analysis results. *Forensic Science International*. 2000;107(1–3):5–12.

## ANEXO A: AVALIAÇÃO DE ESTRESSE MATERNO

### ANEXO A1 – Perceived Stress Scale

| <b>As questões nesta escala perguntam sobre seus sentimentos e pensamentos durante o último mês. Em cada caso, será pedido para você indicar o quão frequentemente você tem se sentido de uma determinada maneira. Embora algumas das perguntas sejam similares, há diferenças entre elas e você deve analisar cada uma como uma pergunta separada. A melhor abordagem é responder a cada pergunta razoavelmente rápido. Isto é, não tente contar o número de vezes que você se sentiu de uma maneira particular, mas indique a alternativa que lhe pareça como uma estimativa razoável. Neste último mês, com que frequência...</b> |                                                                                  | <b>Nunca</b> | <b>Quase nunca</b> | <b>Às vezes</b> | <b>Quase sempre</b> | <b>Sempre</b> |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------|--------------|--------------------|-----------------|---------------------|---------------|
| 1                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | Você tem ficado triste por causa de algo que aconteceu inesperadamente?          | 0            | 1                  | 2               | 3                   | 4             |
| 2                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | Você tem se sentido incapaz de controlar as coisas importantes em sua vida?      | 0            | 1                  | 2               | 3                   | 4             |
| 3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | Você tem se sentido nervoso e “estressado”?                                      | 0            | 1                  | 2               | 3                   | 4             |
| 4                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | Você tem se sentido confiante na tua habilidade de resolver problemas pessoais?  | 0            | 1                  | 2               | 3                   | 4             |
| 5                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | Você tem sentido que as coisas estão acontecendo de acordo com a sua vontade?    | 0            | 1                  | 2               | 3                   | 4             |
| 6                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | Você tem achado que não conseguiria lidar com todas as coisas que tem que fazer? | 0            | 1                  | 2               | 3                   | 4             |
| 7                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | Você tem conseguido controlar as irritações em sua vida?                         | 0            | 1                  | 2               | 3                   | 4             |
| 8                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | Você tem sentido que as coisas estão sob o seu controle?                         | 0            | 1                  | 2               | 3                   | 4             |

|    |                                                                                                |   |   |   |   |   |
|----|------------------------------------------------------------------------------------------------|---|---|---|---|---|
| 9  | Você tem ficado irritado porque as coisas que acontecem estão fora do seu controle?            | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 10 | Você tem sentido que as dificuldades se acumulam a ponto de acreditar que não pode superá-las? | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |

## ANEXO B: COLETA DE CABELO

### ANEXO B1 – Protocolo da coleta de cabelo

#### MANUAL PARA COLETA DE CABELO

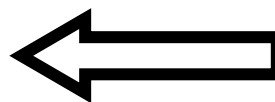
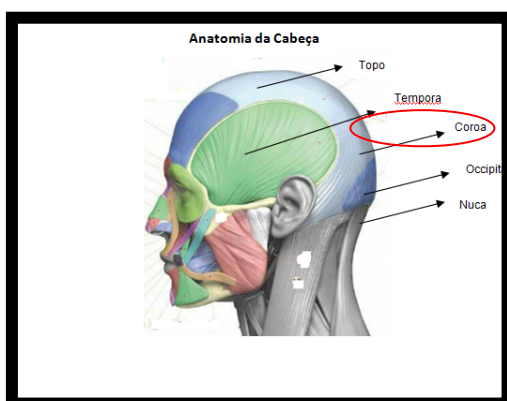
Prof. Luciana Tovo Rodrigues  
Prof. Isabel Oliveira de Oliveira  
Deise Farias Freitas

#### I. Instruções ao COLETADOR

Preencher a folha de coleta  
Preencher o caderno de campo de laboratório  
Vestir o jaleco  
Prender o cabelo  
Coletar primeiro o cabelo da mãe (ou responsável) e depois o da criança.

#### II. Instruções de coleta para a MÃE

Explicar a coleta à mãe ou ao responsável. Deixar claro que:  
“Nós gostaríamos de coletar aproximadamente 50-80 fios de cabelo (metade do diâmetro de um lápis) **SOMENTE** da região da cabeça conhecida como “coroa”, conforme figura abaixo.”



Pedir à mãe que fique sentada em uma cadeira.  
Em caso de recusa ou questionamentos sobre o corte de cabelo, mostrar para a mãe a quantidade de cabelo que será coletado usando o mostruário e tentar reverter a recusa.

#### III. Instruções do procedimento de COLETA

##### 1. Descrição do MATERIAL DE COLETA

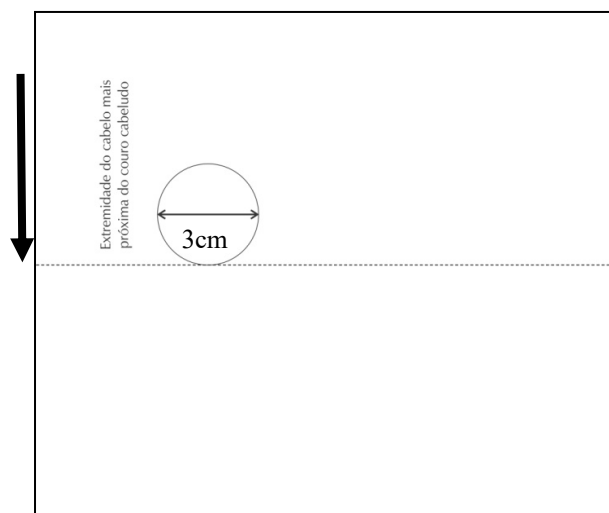
- Tesoura reta ponta romba
- Folhas Papel Toalha
- Álcool 70%
- Etiquetas Identificação do Participante

e. KIT de coleta

## 2. Descrição do KIT DE COLETA

- i. Saco Ziplock
- ii. Cartão de papel
- iii. Pente pequeno
- iv. Clips de cabelo (4)
- v. Clip de escritório (1)
- vi. Barbante

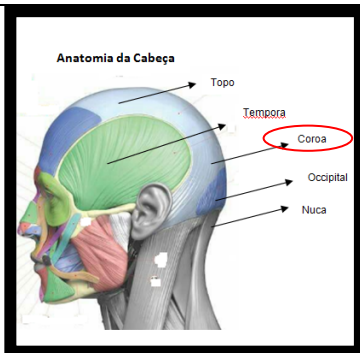
- 3. Higienizar as mãos com álcool;
- 4. Em uma mesa, organizar o **KIT DE COLETA**;
- 5. Abrir o **KIT DE COLETA** na frente do participante a ser coletado. No caso de coleta das crianças, abrir na frente do responsável;
- 6. Identificar o material de coleta com a etiqueta contendo o ID e nome do participante a ser coletado;
- 7. Abrir o cartão de armazenamento do cabelo cortado (ver foto);



- 8. Higienizar a tesoura de coleta de cabelo na frente do participante e do responsável no caso de crianças;

### Diretrizes Gerais

“Você precisará coletar aproximadamente 50-80 fios (metade do diâmetro de um lápis) coletados **SOMENTE** da região da cabeça conhecida como “coroa”, conforme figuras abaixo.”



## PASSOS DA COLETA DE CABELO

- A) Responsável e criança devem estar sentados perto da mesa do coletador. Posicione-se atrás do participante, a fim de tirar a amostra da “coroa” posterior da cabeça (figura abaixo). Não colete cabelo da parte superior da cabeça; os níveis de cortisol são diferentes e queremos garantir a consistência nas amostras.



- B) Na parte de trás da cabeça, traçar uma linha imaginária acima da ponta da orelha, separar um tufo de cabelo e prender com um clipe acima da área a ser coletada se o participante tiver cabelo longo;
- C) Selecionar um tufo de cabelo, dar uma torcida se possível, enlaçar o tufo com o barbante e ajustar para cortar o cabelo o mais rente possível do couro cabeludo (lado das raízes) com a tesoura sem ponta.





#### IV. Instruções para corte de cabelo de diferentes tamanhos

##### **CABELOS CURTOS:**

Se o cabelo a ser coletado tiver menos que 3,0 cm, a quantidade de cabelo deverá ser o dobro da sugerida para coleta. O cabelo poderá ser coletado de diversos pontos para prevenir falhas esteticamente indesejáveis.

Posicionar o pente na linha imaginária para ajudar no corte da mecha de cabelo.

Use um pente para levantar o cabelo, e coloque a tesoura perto do couro cabeludo e corte duas ou três vezes seguindo a linha imaginária.

**OBS:** O cartão de coleta contém a medida de 3,0 cm impresso para indicar o tamanho da mecha do cabelo a ser cortado.

##### **CABELOS MUITO CURTOS:**

Se cabelo for muito curto, seguir o corte natural da nuca ou das laterais, conforme o corte do cabelo do participante de maneira a não prejudicar a estética.

**OBS:** Corte o cabelo diretamente no saco ziplock de armazenamento.

##### **CABELOS LONGOS:**

Em todas as amostras de cabelos longos, é muito importante que se mantenha as raízes alinhadas para que este controle seja mantido.

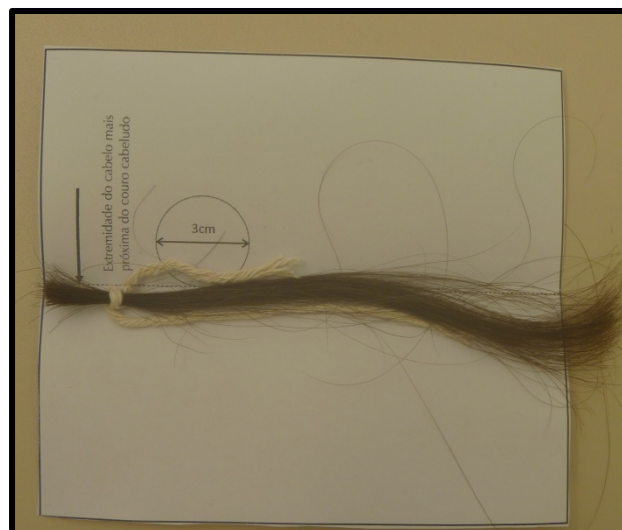
##### **CABELOS ENCARACOLADOS:**

Para cabelos encaracolados longos o procedimento é exatamente o mesmo do cabelo liso longo, talvez seja necessário mais cuidado no alinhamento das raízes.

Para cabelos encaracolados curtos, seguir o mesmo procedimento descrito para cabelos lisos curtos.

- D) Uma vez que a amostra de cabelo foi coletada, colocar os fios de cabelo no meio do cartão, cuidando para que a ponta do cabelo mais próxima da raiz (ou couro cabeludo) fique voltada para a direção da seta, ao longo da linha pontilhada, e fechar o cartão;

**OBS:** o cartão contém a indicação da direção correta que o cabelo deve ser armazenado.



- E) Fixar a amostra de cabelo no cartão dobrado, utilizando o clipe de escritório. (figura abaixo);



- F) Colocar o cartão identificado no saco Ziplock e selar o saco;
- G) Oferecer o pente e o grampo de cabelo utilizado à mãe ou ao responsável caso queira levar para a casa. Se ela (e) não quiser, descartar no lixo contaminado;
- H) Descartar os papeis utilizados na higienização das tesouras no lixo contaminado;
- I) Higienizar as mãos com álcool;

## II. Instruções em relação à CRIANÇA

**Após coletar o cabelo da mãe ou do responsável, prosseguir para a coleta da amostra de cabelo da criança.**

1. Em uma mesa, organizar o **KIT DE COLETA**;
2. Abrir o **KIT DE COLETA** na frente do responsável.
3. Identificar o material de coleta com a etiqueta contendo o ID e nome do participante a ser coletado;
4. Abrir o cartão de armazenamento do cabelo cortado;
5. Higienizar a tesoura de coleta de cabelo na frente do responsável;

### **CUIDADO**

Ter o cuidado para a criança permanecer imóvel durante a coleta;

**Idealmente, a criança deve estar sentada no colo da mãe ou responsável. Solicite ajuda a mãe para ajudar a manter a criança imóvel durante a coleta.**

A criança pode estar fazendo uma atividade que a mantenha ocupada e relativamente quieta. Pergunte aos pais qual atividade eles sugerem, ou, se os pais concordarem, a criança pode assistir a um vídeo no ipad.

Siga os passos **A ao I** do protocolo descrito para a mãe.

## IV. FINALIZAÇÃO

Preencher a folha de coleta respondendo as questões e adicionar as observações de coleta, como, tamanho de cabelo, dificuldades, imprevistos ou qualquer informação não prevista no protocolo que julgue relevante para o procedimento.

**Levar o material da coleta devidamente identificado e acompanhado da folha de coleta ao laboratório.**

## ANEXO B2 – Questionário sobre características cabelo da mãe e da criança

| Folha de coleta de cabelo da criança                                                                     | Folha de coleta de cabelo da mãe                                                                  |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Nome da entrevistadora:                                                                                  | Nome da entrevistadora:                                                                           |
| Data da coleta:                                                                                          | Data da coleta:                                                                                   |
| Horário de início da coleta:                                                                             | Horário de início da coleta:                                                                      |
| Nome da criança:                                                                                         | Nome do filho(a):                                                                                 |
| ID da criança:                                                                                           | ID da mãe:                                                                                        |
| Responsável pela criança:                                                                                | Nome da mãe:                                                                                      |
| Número da visita: (1) (2)                                                                                | Número da visita: (1) (2)                                                                         |
| <br>1) Qual é a cor natural do cabelo da criança?                                                        | 1) Qual é a cor natural do seu cabelo?                                                            |
| 2) Você pinta o cabelo da criança, faz reflexos/luzes?<br>( ) Não → <i>pule para a questão 4</i> ( ) Sim | 2) Você pinta o seu cabelo, faz reflexos/luzes?<br>( ) Não → <i>pule para a questão 4</i> ( ) Sim |
| 3) Quando foi a última vez?                                                                              | 3) Quando foi a última vez?                                                                       |
| 4) Em média, quantas vezes por semana você lava o cabelo da criança?                                     | 4) Em média, quantas vezes por semana você lava o seu cabelo?                                     |
| 5) Quando foi a última vez que você lavou o cabelo da criança?                                           | 5) Quando foi a última vez que você lavou o seu cabelo?                                           |
| 6) Quando foi a última vez que você cortou o cabelo da criança?                                          | 6) Quando foi a última vez que você cortou o seu cabelo?                                          |
| 7) Observações sobre a coleta de cabelo:                                                                 | 7) Observações sobre a coleta de cabelo:                                                          |

### ANEXO B3 – Questionário para análise do cortisol

|                                                                                                                        |                                                                                                                                     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Agora vamos falar sobre medicamentos que você e seu filho tenham usado nos últimos 3 meses:                            |                                                                                                                                     |
| 1. Nos últimos três meses você usou algum remédio?                                                                     | ( ) Sim<br>( ) Não – <i>pule para a questão 4</i>                                                                                   |
| 2. Nome e dosagem do remédio: (Observação: se a mãe não lembrar da dosagem, anota-se apenas o nome)                    | Nome do remédio: _____<br>Dosagem do remédio: _____                                                                                 |
| 3. Tempo de uso do remédio:                                                                                            | ( ) Usa há pelo menos 3 meses<br>( ) Usou em algum período nos últimos 3 meses                                                      |
| 4. Posso lhe mostrar esta cartela com alguns remédios? Você pode conferir se você não usou nenhum desses?              | ( ) Não usou nenhum dos remédios da cartela<br>( ) Usou mais algum remédio – <i>repete as questões 2 e 3 para cada novo remédio</i> |
| 5. Nos últimos três meses o seu(sua) filho(a) usou algum remédio?                                                      | ( ) Sim<br>( ) Não – <i>pule para a questão 8</i>                                                                                   |
| 6. Nome e dosagem do remédio: (Observação: se a mãe não lembrar da dosagem, anota-se apenas o nome)                    | Nome do remédio: _____<br>Dosagem do remédio: _____                                                                                 |
| 7. Tempo de uso do remédio:                                                                                            | ( ) Usa há pelo menos 3 meses<br>( ) Usou em algum período nos últimos 3 meses                                                      |
| 8. Posso lhe mostrar esta cartela com alguns remédios? Você pode conferir se seu(sua) filho(a) não usou nenhum desses? | ( ) Não usou nenhum dos remédios da cartela<br>( ) Usou mais algum remédio – <i>repete as questões 6 e 7 para cada novo remédio</i> |
| Agora vamos conversar sobre fumo:                                                                                      |                                                                                                                                     |
| 9. Você fuma?                                                                                                          | ( ) Não<br>( ) Sim – <i>pule para a questão 11</i>                                                                                  |
| 10. Você fumou em algum momento nos últimos três meses?                                                                | ( ) Não – <i>pule para a questão 12</i><br>( ) Sim                                                                                  |
| 11. Considerando os últimos três meses, com que frequência você fumou?                                                 | ( ) Todos os dias nos últimos 3 meses<br>( ) 1 a 3 vezes por semana nos últimos três meses<br>( ) Poucos dias nos últimos 3 meses   |
| 12. Alguém que mora na sua casa fuma?                                                                                  | ( ) Não<br>( ) Sim – <i>pule para a questão 14</i>                                                                                  |
| 13. Essa pessoa fumou em algum momento nos últimos três meses?                                                         | ( ) Não – <i>encerre o questionário</i><br>( ) Sim                                                                                  |

|                                                                               |                                                                                                                                                                                               |
|-------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 14. Considerando os últimos três meses, com que frequência essa pessoa fumou? | <input type="checkbox"/> Todos os dias nos últimos 3 meses<br><input type="checkbox"/> 1 a 3 vezes por semana nos últimos 3 meses<br><input type="checkbox"/> Poucos dias nos últimos 3 meses |
|-------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

#### ANEXO B4 – AUDIT

|   |                                                                                                                        |        |                          |                             |                               |                                  |          |
|---|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|--------------------------|-----------------------------|-------------------------------|----------------------------------|----------|
| 1 | Com que frequência consome bebidas que contêm álcool?                                                                  | Nunca  | Uma vez por mês ou menos | Duas a quatro vezes por mês | Duas a três vezes por semana  | Quatro ou mais vezes por semana  |          |
| 2 | Quando bebe, quantas bebidas contendo álcool consome num dia normal?                                                   | 1 ou 2 | 3 ou 4                   | 5 ou 6                      | 7 a 9                         | 10 ou mais                       | Não bebe |
| 3 | Com que frequência consome seis doses ou mais numa única ocasião?                                                      | Nunca  | Menos de uma vez por mês | Pelo menos uma vez por mês  | Pelo menos uma vez por semana | Diariamente ou quase diariamente |          |
| 4 | Nos últimos 12 meses, com que frequência se apercebeu de que não conseguia parar de beber depois de começar?           | Nunca  | Menos de uma vez por mês | Pelo menos uma vez por mês  | Pelo menos uma vez por semana | Diariamente ou quase diariamente |          |
| 5 | Nos últimos 12 meses, com que frequência não conseguiu cumprir as tarefas que habitualmente lhe exigem por ter bebido? | Nunca  | Menos de uma vez por mês | Pelo menos uma vez por mês  | Pelo menos uma vez por semana | Diariamente ou quase diariamente |          |
| 6 | Nos últimos 12 meses, com que frequência precisou de beber logo de manhã para "curar" uma ressaca?                     | Nunca  | Menos de uma vez por mês | Pelo menos uma vez por mês  | Pelo menos uma vez por semana | Diariamente ou quase diariamente |          |
| 7 | Nos últimos 12 meses, com que frequência teve sentimentos de culpa ou de remorsos por ter bebido?                      | Nunca  | Menos de uma vez por mês | Pelo menos uma vez por mês  | Pelo menos uma vez por semana | Diariamente ou quase diariamente |          |

|    |                                                                                                                                                       |       |                                   |                                     |                               |                                  |  |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|-----------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------|----------------------------------|--|
| 8  | Nos últimos 12 meses, com que frequência não se lembrou do que aconteceu na noite anterior por causa de ter bebido?                                   | Nunca | Menos de uma vez por mês          | Pelo menos uma vez por mês          | Pelo menos uma vez por semana | Diariamente ou quase diariamente |  |
| 9  | Já alguma vez ficou ferido ou ficou alguém ferido por você ter bebido?                                                                                | Não   | Sim, mas não nos últimos 12 meses | Sim, aconteceu nos últimos 12 meses |                               |                                  |  |
| 10 | Já alguma vez um familiar, amigo, médico ou profissional de saúde manifestou preocupação pelo seu consumo de álcool ou sugeriu que deixasse de beber? | Não   | Sim, mas não nos últimos 12 meses | Sim, aconteceu nos últimos 12 meses |                               |                                  |  |

## **ANEXO B5 – PROTOCOLO DE EXTRAÇÃO DO CORTISOL CAPILAR**

### **CORTE DE CABELO**

- 1) Identificar os tubos falcon com ID da amostra;
- 2) Medir com uma régua 3cm de cabelo (extremidade mais próxima ao couro cabelo, identificada no cartão de coleta), cortar a amostra de cabelo e guardar no tubo já identificado para aguardar a etapa de lavagem.

### **LAVAGENS**

#### **Lavagem 1**

- 1) Adicionar 12 mL de isopropanol no tubo falcon com a amostra de cabelo;
- 2) Inverter manualmente o tubo falcon por 2 minutos;
- 3) Deixar o cabelo no fundo do tubo e descartar o isopropanol sem perder a amostra de cabelo.

#### **Lavagem 2**

- 1) Adicionar 12 mL de isopropanol no tubo falcon com a amostra de cabelo;
- 2) Inverter manualmente o tubo falcon por 2 minutos;
- 3) Retirar a tampa do tubo falcon;
- 4) Deixar o tubo falcon aberto por 48 horas para secar (protegido por cobertura de papel alumínio);
- 5) Após as 48hs, moer a amostra de cabelo no tubo falcon.

### **MOAGEM DO CABELO**

- 1) Colocar 4 bolas no tubo de moagem e a amostra de cabelo na extremidade mais funda do tubo;
- 2) Utilizar uma pinça para retirar amostra de cabelo do tubo falcon para o tubo de moagem;
- 3) Limpar todo material com etanol entre as amostras (inclusive a vedação);
- 4) Colocar a amostra no Cryomill e deixar correr por 3 minutos na frequência de 25 Hz;
- 5) Remover o tubo da moagem do equipamento Cryomill, bater na superfície em ambos os lados do frasco (FECHADO) por 2 minutos para soltar partículas de cabelo das paredes do mesmo;
- 6) Pesar e zerar o papel da pesagem;
- 7) Depositar o cabelo moído, no papel da pesagem;
- 8) Abra o tubo com a ponta rasa no topo;
- 9) Usar colher e pincel para retirar todo o pó de cabelo do papel;
- 10) Pesar o cabelo em pó para que fique entre 0,03 e 0,035 g (registre o valor real) (descarte o pó restante se houver);
- 11) Depositar no tubo eppendorf de 2,0 mL, o pó de cabelo;
- 12) Adicionar 1,0 mL de álcool absoluto + pó de cabelo, agitar o tudo;
- 13) Colocar o tubo eppendorf na o agitador - ajuste a 3 rpm por 24 horas (24h - 48h).

### **EXTRAÇÕES**

#### **Primeira Extração das amostras**



- 1) Passar as amostras no vortex por 2-3 segundos,
- 2) Centrifugar a 3500 rpm por 15 minutos;
- 3) Identificar os tubos eppendorf de 2,0 mL para as amostras do sobrenadante \*(ter a certeza que tem um pellet no tubo);
- 4) Pipetar 800 µL do sobrenadante\*

**OBS: Usar a pipeta (amarela) 20-200 µL**

**Pipetar 3x 200uL (=600uL), e 2x 100uL (=200uL), para o total de 800uL.**

**\*\*E ANOTAR SE O VOLUME FOR < 800µl;**

- 5) Deixar os tubos com o sobrenadante\* aberto, secando de 24-48 horas para garantir a evaporação completa do solvente;
- 6) Adicionar 1,0 mL de álcool absoluto aos tubos originais com pellet, agitar para misturar;
- 7) Secar tubos eppendorf de 24-48 horas para garantir a evaporação completa do solvente;

#### Segunda Extração do sobrenadante

- 8) Passar as amostras no vortex por 2-3 segundos,
- 9) Centrifugar a 3500 rpm por 15 minutos;  
Pipetar 1000 µL do sobrenadante para um novo tubo;

**OBS: Usar a pipeta (amarela) 20-200 µL**

**Pipetar 4x 200uL (=800uL), e 2x 100uL (=200uL), para o total de 1000uL.**

**\*\*E ANOTAR SE O VOLUME FOR < 1000µl;**

- 10) Deixar tubos secando por 24-48 horas para garantir a evaporação completa do solvente;

#### **ENSAIO**

**Quantificar as amostra utilizando o Kit de ELISA Salimetrics de Alta Sensibilidade para Cortisol Salivar.**

- 11) Eluir a amostra em 250 µL tampão laranja Salimetrics (diluyente do ensaio);
- 12) Passar vortex nas amostras até que esteja totalmente dissolvida;
- 13) Deixar repousar de 1- 2horas, se necessário;
- 14) Antes do ensaio, centrifugar a amostra 2100 rpm durante 10 minutos.

## ANEXO C: Conteúdos das sessões de ACT e Conte Comigo

| ACT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                             |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|
| Sessão 1                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | Compreenda os comportamentos do seu filho                   |
| <p>Objetivo: ajudar os pais/cuidadores a aprenderem elementos básicos do desenvolvimento infantil e como responderem adequadamente aos comportamentos dos filhos Aprendizagem esperada:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Qual é a definição de desenvolvimento da criança?</li> <li>• As crianças precisam ter suas necessidades básicas satisfeitas, a fim de se comportarem bem.</li> <li>• Adultos que entendem o desenvolvimento da criança sabem o que uma criança pode fazer e compreender de acordo com a idade.</li> <li>• Adultos que entendem o desenvolvimento da criança sabem o que esperar de seus filhos e tratam seus filhos como crianças.</li> <li>• Adultos que entendem o desenvolvimento da criança tornam-se menos frustrados ou ansiosos sobre o comportamento de seus filhos e são menos propensos a usar o abuso verbal e físico.</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                    |                                                             |
| Sessão 2                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | A violência na vida das crianças                            |
| <p>Objetivo: ajudar os pais a entenderem como as crianças podem estar expostas à violência e as consequências que isso terá em suas vidas Aprendizagem esperada:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Os primeiros anos são muito importantes na aprendizagem. São quando as crianças aprendem lições básicas que vão durar para a vida.</li> <li>• Nos primeiros anos as crianças aprendem a sentir e a entender o que acontece em sua vida, bem como a confiar e se relacionar com os outros.</li> <li>• As crianças aprendem observando e imitando as pessoas à sua volta e por meio de suas próprias experiências. Os adultos precisam ser exemplos positivos e prestar atenção ao que eles fazem e dizem em frente das crianças.</li> <li>• Os adultos precisam criar relações seguras e afetuosas com seus filhos, bem como experiências positivas para que as crianças aprendam coisas positivas.</li> <li>• Uma combinação de fatores individuais e sociais que levam uma criança a se envolver com a violência. Não se trata de apenas um fator.</li> <li>• A violência durante a infância pode ter consequências que duram a vida toda.</li> </ul> |                                                             |
| Sessão 3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | Como os pais podem entender e controlar a raiva             |
| <p>Objetivo: ajudar os pais a aprender a controlar e a lidar com a raiva. Aprendizagem esperada:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• A raiva é uma emoção normal, faz parte de ser humano.</li> <li>• Conflitos com as outras pessoas fazem parte da nossa vida.</li> <li>• É OK sentir raiva, mas não é OK usar a violência.</li> <li>• Os adultos podem aprender a controlar seus sentimentos de raiva.</li> <li>• É importante aprender a resolver conflitos sem violência.</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |                                                             |
| Sessão 4                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | Como entender e ajudar as crianças quando elas sentem raiva |
| <p>Objetivo: ajudar os pais a entenderem os sentimentos de raiva das crianças e a aprenderem como ensiná-las a controlar esse sentimento. Aprendizagem esperada:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• As crianças também ficam com raiva. A raiva é uma emoção normal.</li> <li>• As crianças ficam com raiva no contexto de relacionamento com as pessoas.</li> <li>• A forma de as crianças expressarem a raiva muda com a idade.</li> <li>• As crianças podem aprender a controlar seus sentimentos de raiva, acalmarem-se e resolverem conflitos sem usar a violência.</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |                                                             |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------|
| • Os pais podem ensinar as crianças a controlarem seus sentimentos.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                    |
| Sessão 5                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | As crianças e os meios eletrônicos de comunicação  |
| <p>Objetivo: ajudar os pais a entenderem o impacto da mídia eletrônica no comportamento dos filhos e dar opções sobre como reduzir a exposição das crianças a violência. Aprendizagem esperada:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Os meios eletrônicos de comunicação incluem televisão, computador, videogames, tablets.</li> <li>• Os meios eletrônicos de comunicação transmitem muita violência através de imagens e das letras de música. O tempo que as crianças passam com esses meios de comunicação aumentou consideravelmente nos últimos anos.</li> <li>• Crianças que são altamente expostas à violência na mídia eletrônica podem aumentar suas atitudes e comportamentos violentos.</li> <li>• Crianças pequenas têm dificuldade de entender o que é fantasia e o que é realidade.</li> <li>• Crianças processam as informações que recebem através dos meios de comunicação de maneira diferente dos adultos.</li> <li>• Os pais podem aprender e ensinar as crianças a serem consumidores críticos de mídia eletrônica.</li> <li>• Os pais podem aprender maneiras de reduzir a exposição das crianças à violência nos meios de comunicação eletrônica e seu impacto negativo.</li> </ul> |                                                    |
| Sessão 6                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | Disciplina e estilos parentais                     |
| <p>Objetivo: ajudar os pais a entenderem que a forma como educam seus filhos tem um impacto sobre o comportamento deles por toda a vida Aprendizagem esperada:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• É normal que as crianças não saibam se comportar, porque elas estão aprendendo a entender seu mundo e como se relacionar com os outros.</li> <li>• Os estilos parentais afetam os comportamentos das crianças.</li> <li>• Disciplina envolve acalmar e ensinar as crianças como elas devem se comportar em diferentes idades e em diferentes situações.</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |                                                    |
| Sessão 7                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | Disciplina para comportamentos positivos           |
| <p>Objetivo: ensinar os pais como prevenir comportamentos difíceis e como usar formas positivas de disciplinar as crianças. Aprendizagem esperada:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Como prevenir comportamentos difíceis das crianças, promover comportamentos positivos e evitar colocar crianças em situações que não são próprias para elas.</li> <li>• Métodos positivos de mudança de comportamentos que sejam adequados para a situação e o estágio de desenvolvimento da criança.</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |                                                    |
| Sessão 8                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | Leve o Programa ACT para sua casa e sua comunidade |
| <p>Objetivos: ajudar os participantes a perceberem sobre o que aprenderam com o programa, e que este já está ajudando-os a realizar seus sonhos para seus filhos; encorajar os participantes a usar em casa e na comunidade as ferramentas que aprenderam e reforçar nos pais seu papel de professores, protetores e defensores de seus filhos. Aprendizagem esperada:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Revisar as ferramentas e o conhecimento que os pais adquiriram com o programa.</li> <li>• Perceber que são capazes de mudar seus comportamentos como pais.</li> <li>• Avaliar o quanto eles mudaram com o programa.</li> <li>• Planejar maneiras para proteger e defender seus filhos na comunidade.</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                    |

| <b>CONTE COMIGO</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |                                |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------|
| <b>Sessão 1</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | <b>Introdução</b>              |
| <p>É explicado o propósito e a estrutura do programa de treinamento. O ponto central é o de que, embora as crianças pequenas obviamente não possam ler, se compartilham regularmente livros com um cuidador, isso pode ser extremamente útil para seu desenvolvimento em geral e, especialmente, para sua preparação para o início escolar. Salienta-se que as crianças que tiveram um compartilhamento regular de livros se adaptam à escola muito mais rápido do que as outras crianças, aprendem mais rápido e geralmente se saem muito melhor na escola. O facilitador enfatiza para a mãe que seria, portanto, muito útil para o desenvolvimento de seu filho, eles aprenderem como fazer um bom compartilhamento de livros. O restante da sessão é dedicado a questões práticas, como quando compartilhar livros com a criança (ou seja, quando se está tranquilo, com disponibilidade de tempo, quando o filho não está com fome ou cansado), onde fazer o compartilhamento de livros (ou seja, em algum lugar tranquilo e confortável), e como se sentar com a criança durante o compartilhamento de livros. Os princípios de "apontar e nomear" são introduzidos, bem como "construir e enriquecer" o que a criança diz. Um dos principais focos é enfatizar para mãe a importância de sempre seguir o interesse do(a) filho (a) e responder de forma positiva às suas contribuições. A sessão termina com uma discussão sobre o livro da semana, "A surpresa de Handa". Este é o livro que a mãe receberá para levar para casa para compartilhar. O facilitador lê o livro, destacando suas características interessantes, sugerindo quais aspectos podem atrair a atenção das crianças. As mães são incentivadas a participar e fazer suas próprias sugestões sobre o que no livro pode estimular o interesse de seus filhos. Após a prática individual supervisionada pelo facilitador, as mães e os filhos levam o livro para compartilharem em casa.</p> |                                |
| <b>Sessão 2</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | <b>Fazer relações</b>          |
| <p>Esta sessão está relacionada com "fazer relações". Usando o livro desta semana, "Pequenos Ajudantes", é fornecida uma instrução sobre como a mãe pode encorajar a criança a fazer ligações entre o que o livro mostra e as coisas ou ações no "aqui e agora", experiências da vida cotidiana da criança, e aos seus próprios valores familiares. Há também uma discussão sobre como os links podem ser feitos entre os diferentes aspectos da história e como todas as partes da história se unem para formar uma narrativa completa.</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                |
| <b>Sessão 3</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | <b>Números e comparações</b>   |
| <p>Esta sessão está relacionada com "números e comparações". Usando o livro da semana, "A galinha de Handa", são fornecidas instruções sobre como as mães podem incentivar seus filhos a contar e como usar palavras comparativas como "mais" e "mais alto".</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |                                |
| <b>Sessão 4</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | <b>Falar sobre sentimentos</b> |
| <p>Esta sessão está relacionada a "falar sobre sentimentos". Usando o livro da semana, "Abraço", é fornecida instrução sobre como a mãe pode destacar os diferentes sentimentos dos personagens do livro, como eles podem usar o tom de voz e a expressão facial que combinam com o sentimento que estão transmitindo e como eles se comportam. A mãe pode ainda relacionar os sentimentos dos personagens do livro à experiência emocional de seu filho.</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |                                |
| <b>Sessão 5</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | <b>Falar de intenções</b>      |

Esta sessão está relacionada a "falar de intenções". Usando o livro da semana, "Harry, o cachorro sujo" são fornecidas instruções de como as mães podem ajudar seus filhos a entenderem por que os personagens do livro se comportam daquela forma, e como relacionar as intenções dos personagens no livro às vivências das crianças.

|                     |                              |
|---------------------|------------------------------|
| <b>Sessão<br/>6</b> | <b>Falar de perspectivas</b> |
|---------------------|------------------------------|

Esta sessão está relacionada a "falar sobre perspectivas". Usando o livro da semana, "Harry no mar", instruções são dadas às mães sobre como elas podem ajudar seus filhos a perceberem que diferentes personagens do livro têm diferentes perspectivas - que eles podem ver ou ouvir as coisas de forma diferente, que eles podem saber coisas diferentes, e que podem querer ou sentir coisas diferentes.

|                     |                                    |
|---------------------|------------------------------------|
| <b>Sessão<br/>7</b> | <b>Falar sobre relacionamentos</b> |
|---------------------|------------------------------------|

Esta sessão está relacionada a "falar sobre relacionamentos". Usando o livro da semana, "Tudo está bem quando acaba bem", é fornecida uma instrução sobre como o cuidador pode ajudar seu filho a entender os diferentes tipos de relacionamento que os personagens do livro têm, e como isso está relacionado às suas diferentes intenções e perspectivas.

|                     |                |
|---------------------|----------------|
| <b>Sessão<br/>8</b> | <b>Revisão</b> |
|---------------------|----------------|

Esta é uma sessão de revisão em que os principais princípios de compartilhamento de livros são recapitulados. Há também uma discussão sobre como os participantes levarão o compartilhamento de livros adiante no seu dia-a-dia.

## MODIFICAÇÕES EM RELAÇÃO AO PROJETO ORIGINAL

Durante o desenvolvimento da tese algumas modificações em relação ao projeto original foram necessárias:

O artigo de revisão sofreu apenas duas pequenas alterações. Das bases de dados que foram planejadas, o CINAHL e o Google Scholar foram excluídos da busca. Porém, foram adicionadas as bases Scielo e POPLINE. A escala para medir a qualidade dos artigos selecionados mudou para a *Jadad Scale*.

O artigo original 1 teve pequenas mudanças. A unidade do cortisol capilar analisada foi pg/mg, diferente do estipulado no projeto (ng/mg). Além disso, houve uma decisão de manter esse artigo o mais descritivo possível, uma vez que a literatura ainda carece de um artigo com esses dados em uma amostra populacional. Por esse motivo, retiramos algumas covariáveis (álcool materno, IMC, uso de anticoncepcional e outros medicamentos, pressão arterial sistólica e diastólica e estresse materno) e adicionamos outras (aglomeração na casa, se a criança frequenta creche/escola, educação materna, última lavagem, último corte e tipo de cabelo). Por fim, a análise não foi realizada em níveis hierárquicos, mas sim, vários modelos foram ajustados.

O artigo original 2 que foi planejado no projeto de pesquisa precisou ser modificado. Antes, seriam analisados dados de cortisol do estudo randomizado “PIÁ”. Devido a pandemia de COVID-19 que iniciou em abril de 2020, o laboratório onde dados referentes ao estudo PIÁ (cortisol capilar) estavam sendo analisado precisou fechar. Durante a pandemia, outro artigo referente ao mesmo projeto – sem depender de dados biológicos – foi escrito, aceito e publicado em uma revista internacional. Foi submetido um pedido ao colegiado para mudança do artigo sobre cortisol no PIÁ para o artigo sem dados biológicos do mesmo projeto. O pedido foi aceito e essa mudança no projeto original foi feita.

## RELATÓRIO DE TRABALHO DE CAMPO

---





**Universidade Federal de Pelotas**  
**Programa de Pós-graduação em Epidemiologia**



**Coorte de Nascimentos de 2015**  
**Pelotas/RS**

**Relatório do trabalho de campo**  
**ESTUDO DE ACOMPANHAMENTO DOS 48 MESES**

**Apoio**



**wellcome**trust

## **Lista de Figuras**

Figura 1. Kit utilizado para coleta de saliva

Figura 2. Balança da marca TANITA® modelo UM-080

Figura 3. Estadiômetro fixo da marca Harpenden®

Figura 4. Fita métrica em aço flexível da marca CESCORF®

Figura 5. Aparelho para aferir pressão arterial e frequência cardíaca da marca  
OMRON HEM- 705CPINT

Figura 6. Estadiômetro de alumínio portátil

Figura 7. Escalas de plantões de supervisão de trabalho de campo

Figura 8. Tubo de coleta de saliva com identificação de nome e ID do participante.

Figura 9. Ficha de informações da coleta de saliva

Figura 11. Material para coleta de saliva domiciliar

Figura 11. Kit de coleta de cabelo

Figura 12. Material para armazenamento de coletas de cabelo

Figura 13. Brinde oferecido aos participantes

Figura 14. Números finais do acompanhamento dos 48 meses da coorte de 2015

### **Lista de Tabelas**

**Tabela 1.** Proporção de controle de qualidade por entrevistadora

**Tabela 2.** Tempo de duração da entrevista em minutos

**Tabela 3.** Questões avaliativas da qualidade da entrevista

**Tabela 4.** Concordância (Kappa) entre as variáveis do banco do CQ e banco do acompanhamento

**Tabela 5.** Descrição das entrevistas com ajuda de custo para deslocamento intermunicipal

**Tabela 6.** Descrição das entrevistas realizadas fora de Pelotas

## **Lista de Quadros**

Quadro 1. Cronograma de treinamento

## Sumário

|                                                                                  |    |
|----------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1. Contextualização da Coorte 2015 .....                                         | 6  |
| 2 Grupo de Trabalho.....                                                         | 7  |
| 2.1 Coordenadores e supervisores do estudo .....                                 | 7  |
| 2.2 Equipe geral da coorte .....                                                 | 7  |
| 2.3 Equipe de Entrevistadoras .....                                              | 8  |
| 2.3.1 Remuneração.....                                                           | 8  |
| 3. Seleção e treinamento das entrevistadoras.....                                | 8  |
| 3.1 Treinamento da entrevista .....                                              | 8  |
| 3.2. Treinamento de acelerometria .....                                          | 9  |
| 3.3. Treinamento da entrevistados instrumentos da psicologia .....               | 9  |
| 3.3.1. Descrição dos instrumentos de avaliação psicológica e comportamental..... | 11 |
| 3.4. Treinamento da coleta de saliva.....                                        | 15 |
| 3.5. Treinamento das medidas antropométricas.....                                | 16 |
| 3.6. Treinamento da coleta de cabelo da mãe e da criança.....                    | 18 |
| 3.7. Seleção Final .....                                                         | 18 |
| 3.8. Estudo piloto .....                                                         | 19 |
| 3.9. Retreinamento.....                                                          | 19 |
| 3.10. Novas seleções e treinamentos .....                                        | 19 |
| 4. Equipe de entrevistadoras .....                                               | 19 |
| 5. Plantões.....                                                                 | 20 |
| 6. Logística de coleta de dados.....                                             | 20 |
| 6.1. Logística de testes psicológicos da criança.....                            | 21 |
| 6.2. Logística de coleta da saliva .....                                         | 24 |
| 6.2.1. Procedimento de coleta na clínica.....                                    | 24 |
| 6.2.2. Procedimentos das coletas domiciliares.....                               | 25 |
| 6.3. Logística de coleta de cabelo .....                                         | 26 |
| 6.4. Logística antropometria.....                                                | 28 |
| 6.5. Logística acelerometria .....                                               | 28 |
| 7. Logística de reversão de recusa .....                                         | 28 |
| 8. Download das entrevistas .....                                                | 29 |
| 9. Inconsistências .....                                                         | 29 |
| 10. Reuniões.....                                                                | 29 |
| 11. Controle de Qualidade.....                                                   | 30 |
| 12.    Presentes para as crianças .....                                          | 36 |
| 13. Uniformes.....                                                               | 36 |
| 14. Números finais do acompanhamento dos 48 meses .....                          | 37 |
| 14.1. Ajuda de custo para transporte intermunicipal .....                        | 38 |
| 14.2. Entrevista domiciliar fora de Pelotas .....                                | 39 |

## **1. Contextualização da Coorte 2015**

Em 1982, teve início em Pelotas um estudo sobre a saúde dos recém-nascidos da cidade. Todos os bebês nascidos no município foram avaliados e suas mães entrevistadas. Foi feito um acompanhamento dos bebês com um mês de vida, com três meses, com seis meses e com 12 meses. Este estudo teve um grande impacto nos meios de pesquisa no Brasil e no exterior e seus resultados levaram a um grande número de publicações, que, por sua vez, serviram de referência para a elaboração de políticas de saúde e de novas pesquisas. Em 1993 e 2004 duas novas coortes tiveram início. A repetição destas coortes permite que se avalie como está mudando a saúde dos bebês, o atendimento às gestantes durante o pré-natal, o atendimento ao parto e o perfil da população em termos de fatores de risco para diversas doenças. Estas informações são fundamentais para que as políticas de saúde sejam atualizadas e reflitam as mudanças observadas ao longo do tempo.

Agora, uma nova coorte está sendo iniciada. Diferentemente das outras coortes, em que o primeiro contato com a mãe se deu logo após o nascimento do bebê, nesta coorte as mães dos bebês com nascimento previsto para 2015 foram entrevistadas durante a gestação e, como nas demais coortes, seus filhos já estão sendo acompanhados após o nascimento, aos três, doze, 24 e no ano vigente aos 48 meses de idade. Isto possibilitará a coleta de informações mais detalhadas sobre a saúde e os hábitos maternos no período gestacional, possibilitando uma melhor compreensão das influências da gestação sobre a saúde do filho ao longo da vida.

O nosso papel neste estudo foi fazer com que ele tenha mantido os mais altos padrões de qualidade de modo que os dados obtidos reflitam a realidade da forma mais fiel possível. Os dados coletados fornecerão informações muito importantes e serão analisados e reanalisados durante as próximas décadas. Para atingir o patamar de qualidade desejado, foi necessário muito esforço e dedicação. Neste contexto, este relatório do trabalho de campo reúne toda a base de sustentação deste esforço no acompanhamento dos 48 meses de idade das crianças pertencentes à coorte de 2015.

## **2. Grupo de Trabalho**

### **2.1. Coordenadores e supervisores do estudo**

O acompanhamento de 48 meses do projeto da Coorte de 2015 teve como coordenadores: Prof.<sup>a</sup> Mariângela Freitas da Silveira, Prof. Joseph Murray, e Prof.<sup>a</sup> Andréa Homsí Dâmaso, do Programa de Pós-graduação em Epidemiologia (PPGE) da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), juntamente com o Prof. Marlos Rodrigues Domingues, da Escola Superior de Educação Física (ESEF) da Universidade Federal de Pelotas. Além dos coordenadores do estudo, fizeram parte da equipe de supervisão, Simone Farias Antúnez (Supervisora Geral de Campo das Coortes do Centro de Pesquisas Epidemiológicas), Mariana Gonzalez Cademartori (aluna de Pós-doutorado do PPGE), e Francine dos Santos Costa (aluna de doutorado do PPGE).

A supervisão do trabalho de campo do acompanhamento dos 48 meses foi de responsabilidade dos doutorandos: Fernando Silva Guimarães, Gbenankpon Mathias Houvessou, Mariana Silveira Echeverria, Otávio Amaral de Andrade Leão, Sarah Aranguren Karam (alunos de doutorado do PPGE). As doutorandas do Programa de Pós-Graduação em Educação Física da UFPel, Débora Tornquist e Luciana Tornquist, foram responsáveis pela supervisão do trabalho de campo relativo à coleta de dados de acelerometria, além de participação na supervisão geral. A responsável pelas medidas antropométricas foi Thaynã Ramos Flores (aluna de doutorado do PPGE).

A parte dos testes e avaliações psicológicas que compunham o acompanhamento dos 48 meses da Coorte de Nascimento de 2015 ficou sob a supervisão da psicóloga Luciana Anselmi com o apoio da psicóloga Natália Dias.

### **2.2. Equipe geral da coorte**

A equipe geral da coorte 2015 (acompanhamento dos 48 meses) contou com auxílio de uma secretária, Ana Fagúndez Roja e quatro pessoas contratadas para a recepção (Deise Modesto, Fabiana Vasconcellos, Ana Amaral e Patrícia Vieira). Para o agendamento foram contratadas cinco pessoas (Beatriz Ferreira, Iara Bonneau, Mariana Haertel, Letícia dos Santos e Lisângela Munhoz).

### **2.3. Equipe de Entrevistadoras**

Foram contratadas 32 entrevistadoras que iniciaram o trabalho de campo do acompanhamento dos 48 meses. Os acréscimos e mudanças na equipe de entrevistadoras serão descritos no item 4 (Equipe de entrevistadoras).

#### **2.3.1. Remuneração**

Todas entrevistadoras contratadas foram devidamente remuneradas e receberam uma quantia mensal de 1300 reais, caracterizado como bolsa de pesquisa.

### **3. Seleção e treinamento das entrevistadoras**

As inscrições para o processo seletivo iniciaram no dia 5 de novembro com término no dia 11 de novembro de 2018, tendo aproximadamente 150 candidatas inscritas. Foi realizada uma pré-seleção das inscritas mediante entrevista, sendo selecionadas 80 candidatas para o início do treinamento e seleção das entrevistadoras do acompanhamento dos 48 meses.

A avaliação das candidatas foi realizada durante o treinamento com base os seguintes critérios:

- ✓ Pontualidade/Assiduidade;
- ✓ Interesse;
- ✓ Postura durante o treinamento;
- ✓ Desenvoltura nas práticas de aplicação do questionário;
- ✓ Desempenho na prova teórica;
- ✓ Desempenho nas práticas da aplicação de testes de desenvolvimento infantil;
- ✓ Desempenho nas práticas das medidas antropométricas;

#### **3.1 Treinamento da entrevista**

Na semana do dia 26 de novembro até o dia 11 de dezembro foi realizado o treinamento do questionário (Quadro 1), tendo a presença de 78 candidatas no primeiro dia de capacitação. Foi realizada apresentação da parte teórica de cada bloco do questionário da mãe pelos doutorandos e supervisores gerais, seguida da realização de práticas da aplicação do questionário em papel e no tablet. Além disto, foram apresentadas as atividades que seriam aplicadas diretamente as crianças, mediante exposição teórica e exibição de vídeos com exemplos práticos. No decorrer do treinamento, houve algumas desistências, restando 76 candidatas às vagas para entrevistadora. No dia 03 de dezembro,



foi realizada uma prova teórica e após o resultado desta foram eliminadas algumas candidatas considerando a nota da avaliação, desenvoltura nas práticas e o desempenho geral durante o treinamento. Assim, foram selecionadas 42 candidatas para a próxima etapa do processo seletivo.

Quadro 1. Cronograma de treinamento

| Horário                      | Segunda (26/11)                                                                                                                                                                                                                                                      | Terça (27/11)                                                                                                                                                                              | Quarta (28/11)                                                                                                                                                   | Quinta (29/11)                                                                                                                                                  | Sexta (30/11)                                                                                         |
|------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 08:30 - 10:00                | Inscrições - Identificação fotos<br>1) Apresentação da Coorte<br>(Coordenador: Marlos)<br>2) Apresentação cronograma treinamento<br>Instruções gerais (Simone)<br>Bloco A - Identificação Q1 - Q5<br>(Simone)<br>71 pessoas                                          | BLOCO E – SAÚDE DA MÃE E CONTRACEPÇÃO (Q246 - 293)<br>(Luciana)<br>BLOCO E – SAÚDE DA MÃE E CONTRACEPÇÃO - EPDS (Q294 - Q303) (Simone)                                                     | 9 hs. Apresentação das medidas antropométricas<br>(Thayná)<br>Apresentação da ficha odontol<br>(Mariana)                                                         | 3) Questionário da mãe - Bloco D - comportamentos parentais- PAFAS, PSS, Autocontrole, TA, VPI<br>(Suelen)                                                      | Protocolo da criança - Bloco D- Battelle<br>(Duda e Natália)<br>AGENDAMENTO<br>(Simone)               |
| Intervalo<br>(10:00 - 10:15) |                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                            |                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                 |                                                                                                       |
| 10:15 - 12:00                | Bloco B - Cuidado e alimentação da criança - Q6 - Q73 (Simone)<br>Bloco C- Saúde da criança e sono (SONO) (Q74 - Q90) (Simone)<br>AUDITÓRIO B                                                                                                                        | BLOCO F – ATIVIDADE FÍSICA (Q304 - Q317)<br>AF últimos SETE DIAS (Q318 - Q368)<br>AF deslocamento (Q369 - Q372)<br>(Otávio)<br>Corte de cabelo - Questões cortisol (Q382 - Q407)<br>(Rafa) | Apresentação da acelerometria<br>(Otávio)<br>Aplicação no tablet (simulação em grupo - aplicação umas nas outras)                                                | 4) Bloco D-ACES, EVPE, Assist, MINI, CMS filmagem mãe-criança?<br>(Tiago)                                                                                       | Protocolo da criança - Bloco D- Battelle e Observações<br>(Duda e Natália)<br>AGENDAMENTO<br>(Simone) |
|                              |                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                            |                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                 |                                                                                                       |
| Horário                      | Segunda (26/11)                                                                                                                                                                                                                                                      | Terça (27/11)                                                                                                                                                                              | Quarta (28/11)                                                                                                                                                   | Quinta (29/11)                                                                                                                                                  | Sexta (30/11)                                                                                         |
| 14:00 - 15:45                | Bloco C- Saúde da criança e sono (SAÚDE E COMPORTAMENTO) (Q91 - Q144)<br>(Vanessa)<br>AUDITÓRIO B                                                                                                                                                                    | Bloco C- Remédios (Q145 - Q149)<br>Vacinas (Q150 - Q168)<br>(Maricabel/Vanessa)                                                                                                            | 1) Instruções gerais instrumentos psicológicos (Duda)<br>2) Questionário da mãe - Bloco A- comportamento de criança - SDQ, ELDEQ, EmQue, CBCL/ICU, JVQ<br>(Duda) | 1) Protocolo da criança - Bloco A - BS, Não toque (Suelen)<br>Filmagem: uso da camera (Natália)<br>2) Bloco B- Tarefa ajuda, TVAud, TVExp, impulsividade (Duda) | Protocolo da criança - Bloco D- Battelle<br>(Duda e Natália)<br>AGENDAMENTO<br>(Simone)               |
| Intervalo<br>(15:45 - 16:00) |                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                            |                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                 |                                                                                                       |
| 16:00 - 18:00                | Acidentes (Q169 - Q184)<br>Frelas (Q185 - Q190)<br>(Otávio)<br>Bloco D- Características da mãe, da família e do domicílio - (Q191 - Q212)<br>ABEP (Q213 - Q235)<br>Renda (Q236 - Q245)<br>(Débora)<br>Simulação com questionário em papel - em grupos<br>AUDITÓRIO B | Aplicação no tablet, (simulação em grupo - aplicação umas nas outras)                                                                                                                      | 2) Questionário da mãe - Bloco B e C - social- condições do bairro, justiça e leis, posição social, BART, eventos criança (Rafa)                                 | Protocolo da criança 2) Bloco B- SIPI, Puppets altruísmo (Suelen), Sally-Anne, Go-n-Go, Atenção (Rafa)                                                          | Protocolo da criança - Bloco D- Battelle<br>(Duda e Natália)<br>AGENDAMENTO<br>(Simone)               |

### 3.2. Treinamento de acelerometria

No dia 17 de dezembro de 2018, foi realizado o treinamento da acelerometria. O doutorando Otávio Leão foi responsável pelo treinamento da colocação e pelas instruções referentes à acelerometria. As candidatas foram divididas em duplas para realização das práticas de colocação do acelerômetro.

### 3.3. Treinamento da entrevistadas instrumentos da psicologia

Nos dias 28, 29 e 30 de dezembro de 2018 como parte do treinamento e seleção das entrevistadoras de campo, foi realizado o treinamento das questões psicológicas e de desenvolvimento que faziam parte do questionário aplicado à mãe, tendo a presença das

cerca de 70 candidatas que iniciaram a capacitação. O treinamento foi coordenado pela psicóloga Luciana Anselmi com a participação dos psicólogos Tiago Munhoz, Suelen Cruz e Natália Dias, e da doutoranda Rafaela Costa Martins.

Foi realizada apresentação de slides com a parte teórica do Bloco psicológico e comportamental (uma descrição dos testes aplicados pode ser encontrada no item 3.2.1). A primeira parte do bloco, sobre o comportamento da criança, incluiu 8 instrumentos: SDQ (*Strengths and Difficulties Questionnaire*), ELDEQ (*Etude longitudinale du développement des enfants du Quebec*), Em-Que (*Empathy Questionnaire for infants and toddlers*), CBCL (*Child Behavior Checklist*), subescala de agressividade do CBCL, ICU (*Inventory of Callous-Unemotional Traits short-form*), JVQ (*Juvenile Victimization Questionnaire*) e Eventos estressantes.

O Em-Que e a subescala de agressividade do CBCL foram aplicados apenas nas crianças da amostra do estudo Piá (Primeira Infância Acolhida). O CBCL foi aplicado para as mães de uma amostra de 600 crianças da coorte.

A segunda parte do bloco psicológico e comportamental, sobre práticas educativas e comportamento materno, posição social, justiça e violência doméstica, incluiu 12 instrumentos: PAFAS (*Parent and Family Adjustment Scales*), ACES (*Adverse Childhood Experiences International Questionnaire*), EVPE (Eventos de Vida Produtores de Estresse), PSS (*Perceived Stress Scale*), Auto-controle, Tendência de Atribuição, ASSIST (*Alcohol, Smoking and Substance Involvement Screening Test*), MINI (*Mini International Neuropsychiatric Interview*), VPI (*Violence Against Women questionnaire*), BART (*Balloon Analogue Risk Task*), Posição Social, Condições do Bairro e Justiça/leis.

Ainda nesta primeira semana do treinamento, foi realizado o treinamento teórico das atividades de interação mãe-criança, dos instrumentos aplicados diretamente às crianças, além das questões de observação por parte das entrevistadoras. Foram apresentados slides com questões teóricas e vídeos mostrando a aplicação dos instrumentos, além de demonstração prática dos testes e do uso dos diversos materiais. Os 13 instrumentos aplicados à criança foram os seguintes: teste de desenvolvimento psicomotor BATTELLE (*Battelle's Development Inventory*), Tarefa de Ajuda, Caixa Trancada (apenas amostra Piá), SIPI (*Social Information Processing Interview*), Teste de Vocabulário Auditivo, Teste de Vocabulário Expressivo, Subteste Blocos do WPPSI (*Wechsler Preschool and Primary Scale of Intelligence Manual*) (amostra Piá), GoNoGo, CardSort, Sally-Anne, Teste do Marshmallow, Triangle (amostra Piá) e Altruísmo. As

atividades de observação da interação mãe-criança foram as seguintes: Sensibilidade Cognitiva Materna, Compartilhamento de livros, Não Toque, Brinquedo Livre (amostra Piá) e Guardar Brinquedos (amostra Piá). As duas medidas de observação da entrevistadora foram: Moffit Questions (sobre o auto-controle do comportamento da criança) e impressões da entrevistadora sobre o comportamento da mãe. Também foi treinado o uso da câmera filmadora e do teste no computador (BART). O Subteste Blocos (teste WPPSI) foi aplicado somente pelas psicólogas supervisoras da parte psicológica do acompanhamento dos 48 meses.

Na segunda e terceira semana do treinamento, após o resultado da prova teórica e do treinamento de medidas, foram realizadas atividades de prática da aplicação do questionário em papel e no tablet e da aplicação dos testes e tarefas da criança com 42 entrevistadoras. A prática de aplicação do teste de desenvolvimento infantil BATTELLE e das atividades de interação mãe-criança incluiu registro de respostas (ou dos tempos) com base em vídeos apresentados para comparação entre as entrevistadoras. Foi realizado um retreinamento no dia 04/01/2019.

### **3.3.1. Descrição dos instrumentos de avaliação psicológica e comportamental**

O questionário SDQ foi aplicado às mães para avaliar as dificuldades emocionais e comportamentais da criança, assim como sua relação com os pares e seu comportamento pró-social. Os 25 itens são divididos em 5 subescalas.

O questionário de 14 perguntas ELDEQ foi aplicado às mães com o objetivo de investigar a frequência de comportamento agressivo na criança através de uma escala de três pontos: “Nunca” (0), “As vezes” (1) e “Frequentemente” (2).

O Em Que é um questionário de 20 perguntas respondido pelas mães para indicar o grau de empatia da criança nos últimos 2 meses e com itens codificados numa escala de 3 pontos (0 = nunca, 1 = as vezes, 2 = frequentemente).

O CBCL, respondido pelas mães sobre os problemas emocionais e de comportamento da criança, é composto de 118 perguntas e fornece um escore total e mais 8 subescalas. Além disso, fornece duas escalas compostas sobre problemas de Externalização e de Internalização.

O inventário ICU foi aplicado às mães para investigar dificuldades de empatia, culpa, emoções superficiais e insensibilidade em relação ao sentimento dos outros por parte da criança. É composto por 12 itens.

O JVQ avalia vitimização nas crianças por cuidadores, pares e outros perpetradores e foi aplicado para as mães.

O PAFAS, aplicado às mães, inclui 18 itens da Escala Parental: consistência parental (5 itens), parentalidade coercitiva (5 itens), encorajamento positivo (3 itens) e a Escala de Relacionamento Pais -Criança (5 itens). Cada item é pontuado numa escala de 4 pontos: não é verdadeiro para mim (0) até muito verdadeiro para mim (4).

Para avaliar eventos estressores vividos pela criança foram utilizadas perguntas do estudo ACES-IQ juntamente com questões da seção de estresse pós-traumático do DAWBA resultando em 11 itens pontuados com respostas SIM ou NÃO das mães.

Para avaliar eventos estressores vividos pela mãe nos últimos 12 meses, foi utilizado o EVPE constituído por 11 itens com respostas dicotômicas (Sim e Não).

O PSS avaliou como as mães consideram suas vidas em termos de serem imprevisíveis e da sensação de falta de controle sobre suas vidas. Algumas perguntas investigam a falta de habilidade para lidar com situações estressantes enquanto outras se referem às emoções positivas. Os dez itens são pontuados numa escala Likert de 5 pontos.

O BSCS é uma escala de 13 itens que foi usada para avaliar traço de autocontrole e comportamento auto-regulatório nas mães.

HAQ avalia a tendência de atribuir emoções hostis a outras pessoas. Foram apresentadas às mães diferentes histórias hipotéticas onde elas encontrariam estranhos, amigos e colegas em situações ambíguas para identificar suas interpretações de tais situações. Para cada história, as mães respondem a uma pergunta com interpretação hostil (uma escala Likert de 6 pontos: de 0 “Extremamente improvável” até 5 “Extremamente Provável”).

ASSIST é um *screening* para avaliar problemas ou risco de uso de substância nas mães. São 10 questões (se positivar mais questões sobre frequência são feitas) sobre uso de tabaco, álcool, maconha, cocaína, estimulantes (incluindo ecstasy), inalantes, sedativos, alucinógenos, opióides e 'outras drogas' durante toda a vida e nos últimos três meses.

MINI é uma entrevista diagnóstica para investigar transtorno de personalidade antissocial (6 perguntas). As perguntas foram respondidas sobre a mãe e pai do participante da coorte, biológico ou social (considerando o que tinha mais contato com a criança).

VPI - os 13 itens avaliam três domínios de violência contra a mulher perpetrada pelo parceiro: emocional (4 itens), física (6 itens), sexual (3 itens). Foi aplicada mais uma pergunta sobre controle comportamental.

Foi usada a MacArthur Scale - para avaliar o status social subjetivo (posição social). Foi aplicado às mães apresentando-se uma figura representando uma “escada social” na qual ela deve localizar em qual degrau está localizada em relação à sua comunidade e país.

Para avaliar as ‘Condições do bairro e justiça e leis’ também foram aplicados questionários para avaliar a percepção das mães em relação à violência do bairro, crença nas leis e na justiça social.

O BATTELLE foi aplicado às crianças para avaliar o desenvolvimento neuropsicomotor. É um teste estandardizado que avalia 5 domínios do desenvolvimento: 1) pessoal-social; 2) adaptativo; 3) coordenação motora ampla e fina; 4) comunicação, 5) cognitivo. Parte do Battelle é respondido pelas mães, outra parte é aplicado diretamente à criança e alguns itens que são apenas observados pelo(a) aplicador(a). Cada item é pontuado numa escala de três pontos (0 = raramente ou nunca, 1 = as vezes, 2 = frequentemente). Foram aplicados 66 itens relacionados às idades de 4 a 5 anos ou menos.

Tarefa de Ajuda (*Help Task*) foi aplicada à criança para avaliar seu comportamento pró-social e empatia. O aplicador finge que está com um problema (não consegue encontrar um tubo de cola que está no ângulo de visão da criança) e observa a resposta da criança. A tarefa foi filmada para codificação posterior.

A atividade de compartilhamento de livro (*Book Sharing*) foi usada para avaliar a interação mãe-criança. A dupla mãe-criança foi filmada por aproximadamente 5 minutos sem interferência do aplicador enquanto olhavam um livro de histórias somente com figuras e a mãe contava para a criança. Psicólogas codificaram a tarefa assistindo os vídeos posteriormente.

Caixa Trancada (*LabTab*) foi aplicada à criança para avaliar a expressão e regulação de emoções (como raiva, frustração e tristeza). O(a) aplicador(a) mostra dois brinquedos e pede para a criança escolher o preferido, colocando-o numa caixa transparente que é fechada a chave. Após entrega uma chave errada à criança que tenta abrir a caixa. O(a) aplicador(a) espera quatro minutos antes de dizer para a criança que trocou a chave e entregar a correta. A tarefa foi filmada para codificação posterior.

A SIPI é uma entrevista estruturada aplicada à criança para avaliar a tendência de atribuição de hostilidade às outras pessoas. É uma história em quadrinhos envolve

situações como emprestar um brinquedo, a protagonista ser rejeitada por dois amigos e de ser provocada por um deles. A intenção dos amigos é ambígua gerando diferentes situações: uma rejeição não hostil, uma rejeição ambígua, uma provocação acidental. O(a) aplicador(a) pergunta se a protagonista ou amigos estão certos ou não, pergunta o que a criança faria se acontecesse com ela, entre outras.

O Teste de Vocabulário Auditivo (TVaud) avalia o vocabulário receptivo, a capacidade de entender as palavras da criança. O(a) aplicador(a) mostra 33 lâminas com 5 figuras cada uma e diz uma palavra. A criança deve apontar o objeto equivalente.

O Teste de Vocabulário Expressivo (TVexp) avalia o vocabulário expressivo, a capacidade de nomear da criança. O(a) aplicador(a) mostra um livro com 100 figuras e a criança deve dizer o nome de cada uma.

O subteste 'Blocos' (*block design*) do WPPSI foi aplicado à criança para avaliar função executiva. O(a) aplicador(a) mostra uns cubos pintados e coloca-os em diferentes formatos e a criança deve imitar o mesmo formato.

O EYE GoNoGo foi aplicado à criança para avaliar controle de impulso pela criança. A tarefa exige que a criança toque na tela do ipad para pegar o peixe e NÃO toque na tela do Ipad quando aparece o tubarão. A maioria dos estímulos são para pegar o peixe gerando uma tendência de tocar. A criança deve inibir esta tendência de tocar.

O *EYE Card sorting Task* é um jogo num Ipad usado para avaliar a flexibilidade cognitiva das crianças ("*shifting*"). Aparecem desenhos e é solicitado à criança que os escolha de acordo com duas dimensões diferentes (cor ou forma) que vão se alternando, exigindo uma capacidade de categorização de objetos por parte da criança.

O teste Sally-Anne (ToM) foi aplicado à criança para avaliar sua capacidade de compreender que os outros possuem crenças, desejos e intenções distintas das suas. O(a) aplicador(a) apresenta à criança duas bonecas e uma história envolvendo um objeto escondido. A criança faz suposições e se coloca na perspectiva de uma das bonecas dizendo onde o objeto está.

O Teste do Marshmallow foi aplicado à criança para avaliar sua capacidade de adiar gratificação. O(a) aplicador(a) coloca balas de gelatina em dois potes (um pote com uma e outro com três) e combina com a criança que ela pode comer a bala de um pote a qualquer momento mas se ela esperar o(a) aplicador(a) retornar para a sala (3 minutos e 30 segundos), ela pode ficar com todas as balas. O(a) aplicador(a) sai, observa pelo olho mágico e anota o tempo que a criança esperou.

O teste Altruísmo (*Dictator game*) foi aplicado à criança para avaliar sua capacidade de comportamento altruísta. O(a) aplicador (a) dá 10 adesivos para a criança e, depois, diz que os adesivos acabaram e que a criança que virá depois dela ficará sem nenhum. Pergunta se a criança quer dar algum adesivo para a outra e pede que os coloque numa caixa. Avalia-se quantos adesivos a criança destinou para si e quantos para a outra criança.

*Interviewer Rating Child Self Control (Moffitt/Caspi questions)* são itens preenchidos pelo aplicador (a) no final do protocolo para avaliar o comportamento da criança: falta de controle, irritabilidade, distração, negativismo, labilidade emocional, inquietação.

### **3.4. Treinamento da coleta de saliva**

No dia 03 de novembro realizado o treinamento da coleta de saliva, coordenado pela professora Luciana Tovo Rodrigues e pelas responsáveis pelo laboratório Clarice Brinck Brum e Deise Farias Freitas. Foi realizado um treinamento teórico-prático, onde o método de coleta de saliva foi explicado, seguido de parte prática que foi realizada entre as entrevistadoras. Considerando que apenas cerca de 300 participantes ainda não haviam realizado a coleta de saliva nos acompanhamentos anteriores, as entrevistadoras selecionadas para o trabalho de campo que já tinham experiência na coleta de saliva (duas em cada turno) foram novamente treinadas com o kit de coleta de saliva utilizado no acompanhamento. Desta forma, as entrevistadoras manusearam o kit realizando a coleta de saliva entre elas.

O kit de coleta de saliva utilizado no acompanhamento foi o OG-575 (DNA Genotek) (figura 1), específico para a coleta de saliva de crianças abaixo de 4 anos de idade. Esse kit utiliza esponja coletora (semelhante a um cotonete de tamanho maior), que serve como instrumento para a coleta de saliva e tubo coletor, local onde a saliva era armazenada na quantidade exigida pelo fabricante.



Figura 1: Kit utilizado para coleta de saliva

### 3.5. Treinamento das medidas antropométricas

O treinamento das medidas antropométricas dividiu-se em duas partes: teórico e prático, sob responsabilidade da doutoranda Thaynã Ramos Flores Nunes com auxílio dos demais doutorandos da equipe. No dia 28 de novembro de 2018 foram apresentadas, às candidatas a entrevistadoras, todas as medidas a serem realizadas no acompanhamento dos 48 meses de idade. Nas mães as medidas coletadas foram: peso (kg), pressão arterial (mmHg), frequência cardíaca (bpm) e para um número pequeno (n=48) a altura (cm). Já na criança foram aferidos o peso (kg), estatura (cm), altura sentada (cm), circunferência da cintura (cm), perímetro cefálico (cm), pressão arterial (mmHg) e frequência cardíaca (bpm).

Após as orientações teóricas, contidas no manual de instruções, bem como a apresentação da técnica para realização das medidas e, também, de todos os equipamentos a serem utilizados na clínica e no domicílio, foi realizado o treinamento prático. Este treinamento prático contou com a colaboração da Escola de Educação Infantil Ivanir Dias, localizada no bairro Cohab Tablada, sendo realizado com a turma de crianças entre quatro e cinco anos de idade nos dias 05 e 06 de dezembro de 2018.

O treinamento prático ocorreu da seguinte forma: a doutoranda responsável realizava as aferições das medidas na mesma ocasião e nas mesmas crianças que as candidatas. Posteriormente, a doutoranda responsável avaliou, além da técnica e outros quesitos também considerados, se as medidas realizadas por todas foram semelhantes à do padrão ouro (doutoranda responsável), assumindo a margem de erro aceitável. Os equipamentos usados para aferição das medidas foram: balança da marca TANITA®



modelo UM-080 com capacidade máxima de 150 Kg e precisão de 100g (Figura 2) usada para aferir peso da mãe e da criança, estadiômetro fixo da marca Harpenden® com altura máxima de 2,06 m e precisão de 1 mm (Figura 3) para mensuração da altura em pé da criança e de algumas mães e altura sentada da criança (medida do tronco). Para a essa segunda medida de altura (sentada), foi construído um assento com 55 cm de altura que foi acoplado ao estadiômetro. A fita métrica em aço flexível da marca CESCORF® com 2m de comprimento e 6mm de largura (Figura 4) foi utilizada para medir a circunferência da cintura e o perímetro cefálico e o aparelho para aferir pressão arterial e frequência cardíaca da marca OMRON HEM- 705CPINT (Figura 5). Para entrevistas domiciliares, para mensuração de altura, foi utilizado estadiômetro de alumínio portátil com precisão de 0,1 cm (Figura 6). Não foram realizadas medidas do troco (altura sentada) em entrevistas domiciliares, devido a logística do assento sendo inviável transportá-lo.

As candidatas foram avaliadas de acordo com o empenho, realização aceitável das medidas, técnica, postura, paciência, agilidade e pontualidade. As entrevistadoras selecionadas para o trabalho de campo foram submetidas à retreinamento de medidas antropométricas a cada 90 dias, além de serem supervisionadas durante o trabalho na clínica.



Figura 2. Balança da marca TANITA® modelo UM-080



Figura 3. Estadiômetro fixo da marca Harpenden®



Figura 4. Fita métrica em aço flexível da marca CESCORF®



Figura 5. Aparelho de pressão arterial e frequência cardíaca OMRON HEM-705CPINT



Figura 6. Estadiômetro de alumínio portátil

### 3.6. Treinamento da coleta de cabelo da mãe e da criança

Foi realizado o treinamento da coleta de cabelo, coordenado pela doutoranda Rafaela Costa Martins, pela professora Luciana Tovo Rodrigues e pelas responsáveis pelo laboratório Clarice Brinck Brum e Deise Farias Freitas. Foi realizado um treinamento teórico-prático, onde o método de coleta e armazenamento de cabelo foi explicado, seguido de parte prática que foi realizada entre as entrevistadoras. As entrevistadoras selecionadas para o trabalho de campo foram treinadas com o kit de coleta utilizado no acompanhamento e posteriormente retreinadas. Desta forma, as entrevistadoras manusearam o kit realizando o corte de cabelo entre elas.

### 3.7. Seleção Final

Após concluídas todas as etapas de treinamento, as entrevistadoras foram selecionadas de acordo com o seu desempenho durante o processo de avaliação. Para este acompanhamento as entrevistadoras selecionadas foram divididas em duplas de trabalho, sendo uma entrevistadora destinada somente a aplicação do questionário à mãe ou responsável e outra entrevistadora destinada somente a aplicação de testes à criança. Na

recepção da clínica as entrevistadoras recebiam as informações da identificação do participante (ID e Nome Completo) e davam seguimento a leitura de termo de consentimento e aplicação da entrevista.

### **3.8. Estudo piloto**

O estudo piloto foi realizado no dia 19 de dezembro de 2018, no qual as candidatas realizaram entrevistas na clínica com mães e crianças de idade entre 36 e 48 meses voluntárias (não participantes da Coorte 2015) acompanhadas de um doutorando que avaliava o seu desempenho com o intuito de identificar possíveis pontos a serem retreinados antes do início do campo.

### **3.9. Retreinamento**

No dia 3 de janeiro de 2019 foi realizado o retreinamento das atividades da criança, visando retomar os pontos mais importantes, bem como repassar algumas instruções referentes ao manual dos 48 meses.

### **3.10. Novas seleções e treinamentos**

Com a saída de algumas entrevistadoras no decorrer do trabalho de campo, após chamadas as candidatas listadas como suplentes na primeira capacitação, uma nova seleção e treinamento foram realizados visando a contratação de novas entrevistadoras. Esse novo treinamento seguiu a mesma logística e protocolos utilizados no primeiro processo seletivo.

## **4. Equipe de entrevistadoras**

A equipe de entrevistadoras do acompanhamento dos 48 meses foi composta inicialmente por 32 entrevistadoras (8 duplas (entrevistadora de mãe e entrevistadora de criança) por turno de trabalho), sendo, posteriormente, realizada mais 7 contratações ao longo do trabalho de campo. O motivo para a chamada de mais entrevistadoras consistiu na necessidade de iniciar a realização de entrevistas domiciliares devido a demanda e, ainda em virtude da desistência de 4 entrevistadoras de campo por questões pessoais ou oportunidades de emprego.

## 5. Plantões

Os plantões deste acompanhamento foram de inteira responsabilidade dos doutorandos que supervisionaram o trabalho de campo. Através de escala alternadas, incluindo os finais de semana e feriados (Figura 7), cada doutorando foi responsável pela tomada de decisões no dia do seu plantão. Além de contribuir para o bom andamento do campo, diariamente era enviado pelo doutorando de plantão um relatório via e-mail para os coordenadores e supervisores, contendo informações a respeito de entrevistas pendentes, assim como recusas e/ou informações relevantes que tenham ocorrido durante o plantão. Frente a outras demandas eram feitos também os encaminhamentos necessários (treinamentos, descarrego de dados, etc.).

|       | S  | S | D | S  | T  | Q  | Q  | S  | S  | D  | S  | T  | Q  | Q  | S  | S  | D  | S  | T  | Q  | Q  | S  | S  | D  | S  | T  | Q  | Q  |
|-------|----|---|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
|       | 1  | 2 | 3 | 4  | 5  | 6  | 7  | 8  | 9  | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 | 26 | 27 | 28 |
| MANHÃ | ME |   |   | OL | MC | OL | MC | FG | SK |    | ME | OL | FG | MC | SK | OL | LT | DT | OL | SK | OL | ME |    | FG | ME | LT | DT |    |
| TARDE | FG |   |   | FG | ME | FC | SK | SK | ME |    | FG | FC | SK | ME | FG | FC | LT | DT | FC | FG | MC | ME |    | SK | FC | LT | DT |    |

Figura 7. Escalas de plantões de supervisão de trabalho de campo

## 6. Logística de coleta de dados

Para o acompanhamento dos 48 meses das crianças pertencentes à Coorte de 2015 as entrevistas foram realizadas na clínica localizada no Centro de Pesquisas Epidemiológicas da UFPel e, quando as mães não podiam comparecer à clínica, era agendada a entrevista no domicílio em horário definido pela mãe ou responsável. As entrevistas eram realizadas em salas devidamente equipadas para esta finalidade. Cada entrevistadora foi selecionada com base na disponibilidade de 6h por dia por turno (turno de manhã: 8h30min até 14h30min e turno de tarde: 14h30min até 20h30min). Todas entrevistadoras possuíam devida identificação, portando crachá e estando uniformizadas.

Todas as entrevistas eram previamente agendadas. Um dia antes da entrevista, era realizada uma ligação para a confirmação da ida do participante até a clínica ou visita da entrevistadora no domicílio da mãe e criança.

Quando as entrevistas eram realizadas no domicílio a entrevistadora saíam do CPE com todos os materiais que incluíam os acelerômetros, kit de coleta de saliva (quando necessário), assim como materiais de consumo (fichas impressas, lenços umedecidos, uvas-passa) que eventualmente estivessem em falta para a realização da entrevista. Entrevistas não realizadas pelas entrevistadoras eram informadas à equipe de agendamento para controle.

### 6.1. Logística de testes psicológicos da criança

Preferencialmente o bloco A (filmagem interação mãe-criança) era o primeiro bloco de instrumentos aplicado no início da entrevista da criança, em conjunto com a mãe. Para as filmagens foram utilizadas câmeras da marca Canon EOS Rebel, modelos T5 e T6 que eram acionadas pela entrevistadora no início do bloco A. A filmagem iniciava-se com a entrevistadora dizendo o nome e ID do participante para posterior identificação. Todas as imagens obtidas foram armazenadas em Hard Drives (HDs) externos. Estes dados foram utilizados posteriormente para a transcrição da interação filmada e avaliação dos instrumentos por psicólogos.

O bloco A era composto de 6 instrumentos (Sensibilidade Cognitiva Materna [A], Compartilhamento de livros [B], Não Toque, Brinquedo Livre – amostra PIÁ, Guardar Brinquedos (amostra PIÁ) e perguntas do Battelle para a mãe). Outros aspectos da logística de aplicação deste bloco incluíam:

- Responder a eventuais dúvidas da mãe sobre o estudo
- Observar o ambiente e identificar se a posição da câmera e espaço para atividade estão adequados. Caso necessário, posicionar o tripé com a filmadora (filmadora direcionada contra a luz para a gravação não ficar escura). Ligar a luz, se necessário.
- Observar se há ruídos no ambiente. Solicitar à mãe para desligar o celular ou colocar no silencioso pelos próximos 10 minutos.
- Solicitar à mãe para a criança não usar bico ou mamadeira durante as atividades de brincadeira.
- Testar o enquadramento da filmadora. Realizar os ajustes necessários.
- Ligar a filmadora e falar o nome e o ID da criança.

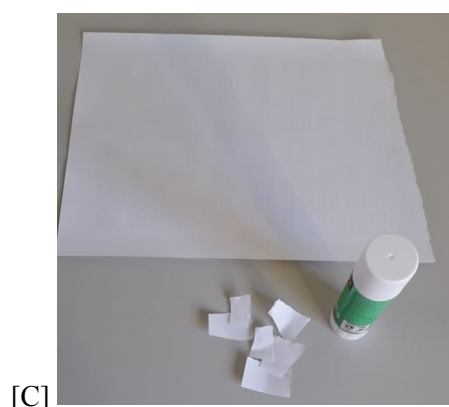
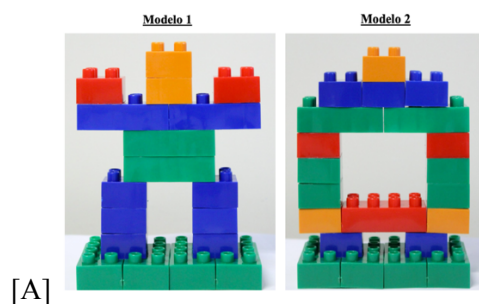
Após, iniciava-se o bloco B, que consistia na filmagem da criança sozinha, contendo dois instrumentos (tarefa de ajuda (*Help task*) [C] e caixa trancada – amostra PIÁ [D]). Estes instrumentos avaliavam empatia e tolerância à frustração, respectivamente.

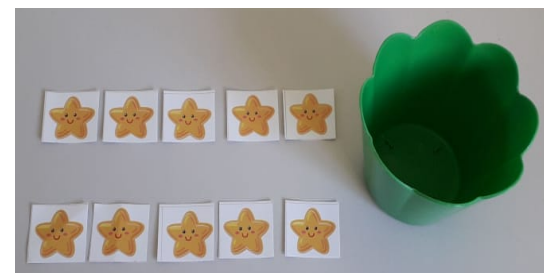
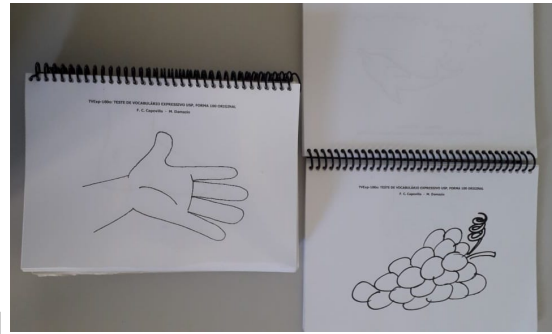
Após a aplicação do Bloco B, mãe e criança eram conduzidas a salas separadas (em geral, uma ao lado da outra) onde continuariam as suas atividades cada uma com uma entrevistadora. Este passo (colocar mãe e criança em salas separadas) só não era realizado caso a criança se negasse a se separar da mãe e, nestes casos, adaptava-se uma sala onde as duas entrevistadoras poderiam realizar as atividades da mãe e da criança ao

mesmo tempo.

Na sequência, o bloco C de atividades compreendia 10 testes: Teste de Vocabulário Auditivo [E], Teste de Vocabulário Expressivo [F], Subteste Blocos do WPPSI (amostra PIÁ), GoNoGo [G], CardSort [H], Sally-Anne [I], Affect Knowledge [J], Teste do Marshmallow, atribuição de hostilidade (SIPI), Triangle (amostra PIÁ) e Altruísmo [K].

Por fim, era aplicado o Bloco D, o qual era composto pelas questões do Battelle [L] que eram observadas na criança (as questões que eram respondidas pela mãe eram aplicadas após o bloco B, antes de separar mãe e criança). A falta de controle da criança (questões Moffitt) era feito por observações da criança pela entrevistadora e tinha observações da entrevistadora sobre comportamento da mãe, sendo que estas não eram lidas, apenas observadas pela entrevistadora e registrado no tablet no final da entrevista. Nos casos onde foi identificado que as questões Moffitt não haviam sido preenchidas pela entrevistadora, era solicitado que a mesma observasse as filmagens da criança em questão e fizesse o preenchimento posteriormente.





## 6.2. Logística de coleta da saliva

### 6.2.1. Procedimento de coleta na clínica

Preferencialmente a coleta de saliva era realizada antes do “Jogo do Esperar”, teste que a criança ganhava balas de gelatina. Além disso, a criança deveria estar em jejum por pelo menos 30 minutos antes da coleta. Outros aspectos de logística para a coleta de incluíam:

- a) Explicação sobre a coleta aos responsáveis: A coleta foi explicada para os responsáveis pela criança a fim de esclarecer qualquer dúvida;
- b) Preparação e organização do material: Todo o material a ser utilizado devia estar preparado para a realização da coleta da saliva. Exemplo: kit coletor, etiquetas, luvas, lixo para descarte de material, estante de suporte para tubo;
- c) O kit deveria ser aberto na frente da mãe e/ou responsável, ser manuseado com luvas tomando sempre o cuidado de não contaminar a amostra enquanto mantivessem comunicação com a mãe ou criança.
- d) Após o final da coleta, no final do turno, as amostras eram levadas ao laboratório.

#### 6.2.1.1. Logística de entrega das amostras da saliva no laboratório

No início de cada turno de trabalho as responsáveis pelo laboratório deveriam pegar as amostras na recepção, devidamente etiquetadas (Figura 8) com os dados da criança juntamente com a sua ficha de identificação de coleta (Figura 9) para o laboratório do CPE.

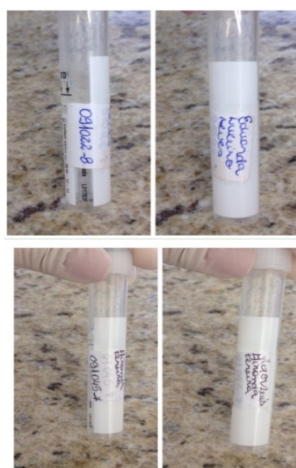


Figura 8. Tubo de coleta de saliva com identificação de nome e ID do participante.



Data:

Coleta Número:

| INFORMAÇÕES COLETA DE SALIVA                         |                     |
|------------------------------------------------------|---------------------|
| 1. ID da criança                                     |                     |
| 2. Nome da criança                                   |                     |
| 3. Nome da coletadora                                |                     |
| 4. Horário da última refeição da criança             | ___ : ___           |
| 5. Se a criança ainda mama, horário da última mamada | ___ : ___<br>( )IGN |
| 6. Horário de início da coleta                       | ___ : ___           |
| 7. Observações                                       |                     |
| 8. Horário de término da coleta                      | ___ : ___           |

Figura 9. Ficha de informações da coleta de saliva

No laboratório as amostras eram recebidas, realizada a conferência das etiquetas e fichas de informações da coleta (nome e ID). Após eram armazenadas em uma sala com temperatura controlada (aproximadamente 19 °C), até o momento da extração de DNA.

#### 6.2.2. Procedimentos das coletas domiciliares

Para coleta domiciliar era estabelecido um protocolo, onde havia um material separado, que era levado na mochila, para o melhor transporte das amostras de saliva.

Material para coleta domicílio (Figura 10):

- 1 kit para coleta de saliva;
- 1 grade para colocar a amostra (em saco plástico identificado);
- 2 pares de luvas (em saco plástico identificado);
- 1 ficha para preenchimento de todas as informações envolvendo a coleta de saliva;
- Etiqueta para identificação da amostra;
- 2 canetas (1 esferográfica; 1 marcador permanente) para preenchimento da ficha, da etiqueta e marcação do tubo (quando a coleta fosse insuficiente).

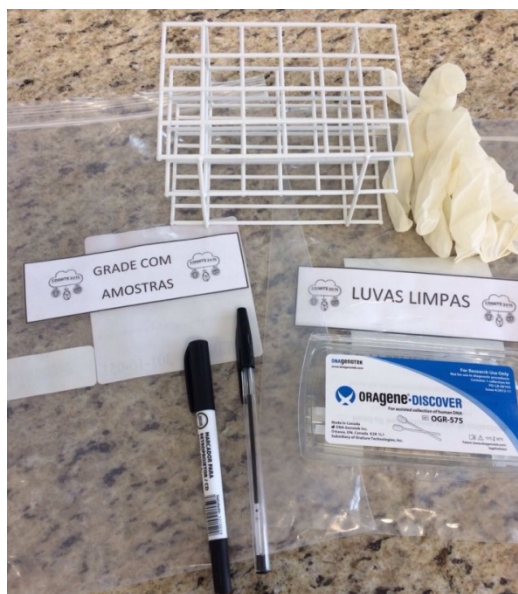


Figura 10. Material para coleta de saliva domiciliar

A folha de preenchimento dos dados da criança era mantida em um local seco e seguro e ainda ser tomado o devido cuidado se foi feito o preenchimento completo da mesma, como: ID da criança, nome completo, todos os horários solicitados e ainda, toda e qualquer observação que a entrevistadora julgasse relevante para a coleta. Lembrando que na etiqueta de identificação da amostra deve conter: ID da criança e nome completo (com abreviação de um dos sobrenomes, quando necessário).

Após o término da entrevista e o retorno ao Centro de Pesquisas Epidemiológicas, a amostra e a ficha referente à coleta eram imediatamente entregues ao laboratório.

### 6.3. Logística de coleta de cabelo

Nas salas de entrevistas foram disponibilizados kits de coleta de cabelo. Eles continham tesoura, papel toalha para higienização da tesoura, cartão de papel e saco ziplock (armazenar amostra de cabelo), clips de cabelo, barbante para amarrar a mecha a ser coletada, clips de escritório para fixar amostra de cabelo no cartão de papel, pente e etiquetas de papel comum para identificação provisória (Figura 11).

Realizada a etapa da amostra do corte de cabelo, a entrevistadora preenchia a folha de coleta respondendo as questões e adicionando as observações de coleta, como, tamanho de cabelo, dificuldades, imprevistos ou qualquer informação não prevista no protocolo que julgasse relevante para o procedimento.

Uma das responsáveis pelo laboratório recolhia todo o material do dia anterior que ficava na recepção e levava para o laboratório. No laboratório, o material da coleta era identificado, com etiquetas definitivas e acondicionado em sacos de sílica no ziplock, para preservar o material da coleta de possíveis danos (umidade e mofo) (Figura 12).



Figura 11. Kit de coleta de cabelo

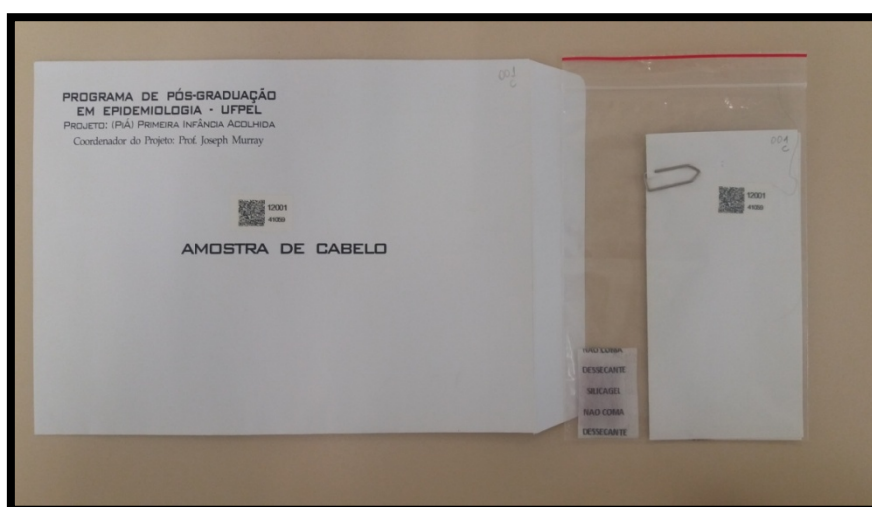


Figura 12. Material para armazenamento de coletas de cabelo

#### **6.4. Logística antropometria**

Preferencialmente as medidas antropométricas eram realizadas após a aplicação do questionário a fim de evitar maiores estresses na criança. Para a logística da coleta de forma correta era necessário que a criança estivesse com o mínimo de roupa possível para as medidas de peso, altura e altura sentado. Também eram coletadas medidas de circunferência abdominal, perímetro cefálico, frequência cardíaca e pressão sistólica e diastólica da criança. Da mesma forma, em relação às medidas antropométricas da mãe, o peso, pressão sistólica e diastólica e frequência cardíaca.

#### **6.5. Logística acelerometria**

Após a realização da entrevista e demais procedimentos, as entrevistadoras levavam as crianças à recepção para a colocação do acelerômetro sob supervisão do doutorando de plantão do dia. A recepcionista explicava para a mãe da criança as instruções de uso do acelerômetro, no acompanhamento dos 48 meses.

Os cuidados com o acelerômetro incluíam:

- a) Cuidados com a pele da criança (secagem após imersão em água);
- b) Explicação sobre o aparelho e dados de contato para emergências;
- c) As entrevistadoras foram orientadas a colocar o acelerômetro no punho esquerdo das crianças e com o botão de fechamento voltado para os dedos. O doutorando de plantão no dia verificava se o acelerômetro não estava muito apertado que pudesse machucar a criança ou muito solto que pudesse sair facilmente quando a criança estivesse brincando.
- e) Após os nove dias de uso era agendado um turno para que um motoboy recolhesse o acelerômetro no domicílio da criança. Acho que seria bom incluir aqui a informação de que a acelerometria tem um relatório de campo específico.

#### **7. Logística de reversão de recusa**

Após a identificação de uma recusa, algumas estratégias foram aplicadas com o intuito de reverter o posicionamento inicial da mãe e/ou responsável da não participação no acompanhamento. A primeira estratégia foi a realização de uma ligação telefônica por uma pessoa específica da equipe (Lisangela Munhoz) onde era explicada a importância do estudo. Caso a mãe continuasse não aceitando participar do estudo, como segunda estratégia, era realizada uma visita ao domicílio na tentativa de convencer a mãe da

importância da participação no estudo. Após estas tentativas era decidido pela coordenação se o caso deveria ser considerado uma recusa definitiva.

## **8. Download das entrevistas**

As entrevistas eram descarregadas por turnos diariamente pelo doutorando de plantão, sendo anotado numa planilha dados do tablet utilizado pela entrevistadora (data, número de identificação do questionário e número do tablet, nome da entrevistadora e nome do doutorando responsável pelo download).

## **9. Inconsistências**

Para verificar as inconsistências no banco de dados foi aplicada a seguinte rotina no acompanhamento dos quarenta e oito meses:

- (1) Elaboração do mapa de inconsistências através da qualidade de dados do RedCap;
- (2) Construção de uma planilha com as inconsistências geradas;
- (3) Checagem quinzenal com as entrevistadoras;
- (4) A planilha com as soluções das inconsistências era então encaminhada para o responsável pelas modificações diretas no banco de dados.

## **10. Reuniões**

No acompanhamento dos 48 meses foram realizadas reuniões semanais entre a equipe, incluindo coordenadores, supervisores do trabalho de campo e secretárias, a fim de discutir e encaminhar resoluções para as pendências observadas durante o trabalho de campo. Pautas sempre presentes nessas reuniões foram: a avaliação do controle de qualidade a cada 15 dias, o acompanhamento do número de entrevistas do trabalho de campo e, ainda, o feedback dos supervisores do trabalho de campo, neste caso os doutorandos, acerca do desempenho das entrevistadoras. Ainda, foram realizadas, periodicamente, reuniões entre a equipe de coordenação e supervisão e entrevistadoras. Todas as reuniões aconteceram nas dependências do Centro de Pesquisas Epidemiológicas e foram previamente agendadas, a fim de não prejudicarem os horários de trabalho e a realização de entrevistas.

## 11. Controle de Qualidade

Neste acompanhamento o controle de qualidade (CQ) foi realizado através de ligações telefônicas. O questionário de CQ era composto por 12 questões, aplicadas por bolsistas de iniciação científica devidamente treinados para essa função. Quinzenalmente eram realizados sorteios sistemáticos em 20% da amostra para a realização do CQ, tendo uma margem de segurança de 10% para aqueles casos em que não se conseguia contato com as mães. Do total de 20% sorteados, 10% das mães ou responsáveis eram entrevistados. O sorteio era realizado no pacote estatístico Stata versão 12.0, utilizando o comando *sample*. O banco de dados era obtido a partir de um reporte desenvolvido no software de coleta de dados RedCap®, com variáveis necessárias para o contato telefônico e preenchimento do questionário de controle de qualidade (nome da mãe, telefones, data da entrevista, nome da entrevistadora que realizou a entrevista). O banco era exportado e transferido para análise no Stata. Após o sorteio, o banco de dados com as mães selecionadas foi exportado para uma planilha no Microsoft Excel, que seria então utilizada pelos estudantes para o contato telefônico.

Um doutorando (Francine Costa) esteve responsável por todo o processo de Controle de Qualidade dos dados coletados aos 48 meses. Quinzenalmente o controle de qualidade era apresentado e discutido nas reuniões gerais da Coorte de 2015. A coleta de dados para o relatório de CQ era realizada através de um projeto criado no RedCap especialmente para esta função. Após finalizadas as entrevistas com as mães selecionadas era conduzida a análise dos dados. O relatório com os dados analisados continha um “banco parcial”, que incluía as informações mais atuais (últimos 15 dias) e “banco geral” que continha todos os CQ do acompanhamento até aquele momento.

A proporção de entrevistas de controle de qualidade realizada por entrevistadora foi monitorada ao longo do ano e pode ser observada na tabela 1. Os tempos de duração das entrevistas, por entrevistadora, estão descritos na tabela 2 e questões avaliativas e estatística Kappa estão descritos nas tabelas 3 e 4. Foram realizadas 438 entrevistas de controle de qualidade, 369 de mães entrevistadas na clínica, 54 no domicílio e 15 por telefone.

Quando identificado algum problema nas questões avaliativas da qualidade da entrevista (Tabela 3), a doutoranda responsável pelo controle de qualidade entrava em contato com a entrevistadora responsável, e nos casos em que não eram esclarecidas as dúvidas entrava-se em contato com a mãe participante da pesquisa para investigar. Nesta

mesma tabela é possível observar que muitas mães que não foram avisadas do acompanhamento dos 6 anos, problema identificado no início do acompanhamento. Com isso, imediatamente após, as entrevistadoras foram informadas e orientadas novamente a sempre esclarecerem a data do próximo acompanhamento. Além disso, é possível verificar que na questão referente a pontualidade da entrevistadora algumas respostas foram negativas. Esse problema ocorreu, pois em algumas situações específicas de entrevista residencial, a entrevistadora não encontrou o endereço residencial e despendeu um tempo para isso, gerando alguns atrasos. Alguns atrasos ocorreram devido a entrevistas agendadas em horário determinado, porém algumas mães chegavam mais cedo ao Centro de Pesquisas, gerando alguns transtornos na logística do acompanhamento, no que se refere a pronta disponibilidade das entrevistadoras para o atendimento. Com relação aos brindes, algumas vezes as entrevistadoras esqueciam-se de levar junto com o restante do material, nesses casos, contatava-se a mãe participante da pesquisa e agendava-se um horário para a entrega do brinde que foi esquecido, que muitas vezes foi feito junto ao responsável pela coleta dos acelerômetros.

Na tabela 4 observa-se o índice de concordância (Kappa) das entrevistas. Neste momento, quando verificada mais de uma inconsistência em uma mesma entrevista ou de uma mesma entrevistadora, entrava-se em contato com essa mãe aplicando novamente o questionário, solicitando que a mesma respondesse de acordo com o que relatou no dia da entrevista, verificava-se o possível equívoco na resposta do controle de qualidade. Em relação à concordância, maiores valores de pares discordantes foram observados para as questões “Fez a coleta da mecha de cabelo” e “Assiste televisão todos ou quase todos os dias”.

Tabela 1. Proporção de controle de qualidade por entrevistadora.

| <b>Entrevistadora</b> | <b>N</b>   | <b>%</b>   |
|-----------------------|------------|------------|
| <b>Total</b>          | <b>438</b> | <b>100</b> |
| 1                     | 40         | 9.13       |
| 2                     | 30         | 6.85       |
| 3                     | 21         | 4.79       |
| 4                     | 22         | 5.02       |
| 5                     | 15         | 3.42       |
| 6                     | 44         | 10.05      |
| 7                     | 17         | 3.88       |
| 8                     | 22         | 5.02       |
| 9                     | 8          | 1.83       |
| 10                    | 1          | 0.23       |
| 11                    | 1          | 0.23       |
| 12                    | 1          | 0.23       |
| 13                    | 13         | 2.97       |
| 14                    | 32         | 7.31       |
| 15                    | 18         | 4.11       |
| 16                    | 11         | 2.51       |
| 17                    | 1          | 0.23       |
| 18                    | 16         | 3.65       |
| 19                    | 22         | 5.02       |
| 20                    | 20         | 4.57       |
| 21                    | 17         | 3.88       |
| 22                    | 21         | 4.79       |
| 23                    | 6          | 1.37       |
| 24                    | 5          | 1.14       |
| 25                    | 22         | 5.02       |
| 26                    | 12         | 2.74       |



Tabela 2. Tempo de duração da entrevista em minutos.

| <b>Entrevistadora</b> | <b>média</b> | <b>amplitude</b> |
|-----------------------|--------------|------------------|
| <b>Total</b>          |              |                  |
| 1                     | 135,25       | 60-240           |
| 2                     | 137,50       | 60-255           |
| 3                     | 157,62       | 120-240          |
| 4                     | 144,55       | 90-240           |
| 5                     | 134,00       | 30-240           |
| 6                     | 128,98       | 45-360           |
| 7                     | 128,82       | 60-180           |
| 8                     | 132,27       | 30-240           |
| 9                     | 138,75       | 90-180           |
| 10                    | 120,00       | 120-120          |
| 11                    | 60,00        | 60-60            |
| 12                    | 180,00       | 180-180          |
| 13                    | 151,54       | 50-180           |
| 14                    | 134,84       | 60-240           |
| 15                    | 138,33       | 90-240           |
| 16                    | 144,55       | 120-240          |
| 17                    | 120,00       | 120-120          |
| 18                    | 165,00       | 120-240          |
| 19                    | 150,00       | 90-300           |
| 20                    | 130,50       | 90-180           |
| 21                    | 159,41       | 60-240           |
| 22                    | 122,14       | 30-180           |
| 23                    | 175,00       | 90-240           |
| 24                    | 132,00       | 120-180          |
| 25                    | 122,73       | 60-180           |

Tabela 3. Questões avaliativas da qualidade da entrevista.

| <b>Entrevistadora</b>         | <b>Não veio até a clínica/<br/>recebeu visita da<br/>entrevistadora</b> | <b>A<br/>entrevistadora<br/>não foi<br/>pontual</b> | <b>Mãe não foi<br/>bem tratada<br/>pela<br/>entrevistadora</b> | <b>Não sabe<br/>da<br/>visita dos<br/>6 anos</b> | <b>Não recebeu<br/>o brinde</b> |
|-------------------------------|-------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------|---------------------------------|
| <b>N discordantes<br/>(%)</b> | <b>0 (0,0)</b>                                                          | <b>13 (3,0)</b>                                     | <b>0 (0,0)</b>                                                 | <b>72 (16,6)</b>                                 | <b>12 (2,8)</b>                 |
| 1                             |                                                                         | 1 (3,0)                                             |                                                                | 3 (9,0)                                          | 1 (3,0)                         |
| 2                             |                                                                         | 2 (7,0)                                             |                                                                | 5 (17,5)                                         |                                 |
| 3                             |                                                                         |                                                     |                                                                | 2 (9,5)                                          |                                 |
| 4                             |                                                                         |                                                     |                                                                | 2 (9,0)                                          |                                 |
| 5                             |                                                                         | 1 (7,0)                                             |                                                                | 4 (28,0)                                         | 1 (7,0)                         |
| 6                             |                                                                         | 1 (2,0)                                             |                                                                | 4 (8,0)                                          | 1 (2,0)                         |
| 7                             |                                                                         |                                                     |                                                                | 3 (17,6)                                         |                                 |
| 8                             |                                                                         |                                                     |                                                                | 4 (18,2)                                         | 1 (4,6)                         |
| 9                             |                                                                         | 3 (38,0)                                            |                                                                | 3 (38,0)                                         | 1 (12,7)                        |
| 10                            |                                                                         |                                                     |                                                                |                                                  |                                 |
| 11                            |                                                                         |                                                     |                                                                | 1 (100,0)                                        |                                 |
| 12                            |                                                                         |                                                     |                                                                | 1 (100,0)                                        | 1 (100,0)                       |
| 13                            |                                                                         |                                                     |                                                                | 4 (30,8)                                         |                                 |
| 14                            |                                                                         | 1 (3,0)                                             |                                                                | 4 (12,0)                                         | 3 (9,0)                         |
| 15                            |                                                                         |                                                     |                                                                | 3 (16,7)                                         |                                 |
| 16                            |                                                                         |                                                     |                                                                | 1 (9,0)                                          | 1 (9,0)                         |
| 17                            |                                                                         |                                                     |                                                                |                                                  |                                 |
| 18                            |                                                                         |                                                     |                                                                | 3 (18,7)                                         | 1 (6,2)                         |
| 19                            |                                                                         |                                                     |                                                                | 4 (18,2)                                         |                                 |
| 20                            |                                                                         |                                                     |                                                                | 1 (5,0)                                          |                                 |
| 21                            |                                                                         |                                                     |                                                                | 6 (35,3)                                         |                                 |
| 22                            |                                                                         | 1 (5,0)                                             |                                                                | 3 (15,0)                                         | 1 (5,0)                         |
| 23                            |                                                                         |                                                     |                                                                | 1 (16,7)                                         |                                 |
| 24                            |                                                                         | 2 (40,0)                                            |                                                                | 1 (20,0)                                         |                                 |
| 25                            |                                                                         | 1 (4,5)                                             |                                                                | 5 (22,5)                                         |                                 |
| 26                            |                                                                         |                                                     |                                                                | 4 (33,3)                                         |                                 |

Tabela 4. Concordância (Kappa) entre as variáveis do banco do CQ e banco do acompanhamento.

| Entrevistadora     | Fez a coleta da mecha de cabelo | Trabalha fora de casa | Assiste televisão todos ou quase todos os dias | Fuma     | Mãe tem marido ou companheiro | Engravidou depois que a criança nasceu |
|--------------------|---------------------------------|-----------------------|------------------------------------------------|----------|-------------------------------|----------------------------------------|
| N discordantes (%) | 92 (21,2)                       | 37 (8,6)              | 65 (15,2)                                      | 25 (5,9) | 18 (4,2)                      | 7 (1,6)                                |
| Kappa              | 0,258                           | 0,828                 | 0,516                                          | 0,833    | 0,870                         | 0,951                                  |
| 1                  | 0,186                           | 0,846                 | 0,435                                          | 1,000    | 0,684                         | 1,000                                  |
| 2                  | 0,237                           | 0,863                 | 0,593                                          | 0,917    | 1,000                         | 1,000                                  |
| 3                  | 0,312                           | 1,000                 | 0,146                                          | 0,588    | 1,000                         | 1,000                                  |
| 4                  | 0,290                           | 0,723                 | 0,455                                          | 0,882    | 0,741                         | 0,879                                  |
| 5                  | -                               | -                     | -                                              | -        | -                             | -                                      |
| 6                  | 0,272                           | 0,748                 | 0,224                                          | 1,000    | 0,431                         | 0,723                                  |
| 7                  | 0,150                           | 1,000                 | 0,463                                          | 0,730    | 1,000                         | 1,000                                  |
| 8                  | 0,147                           | 0,899                 | 0,222                                          | 1,000    | 0,904                         | 0,645                                  |
| 9                  | 0,429                           | 1,000                 | -                                              | 1,000    | -                             | 1,000                                  |
| 10                 | -                               | 0,667                 | 0,800                                          | 1,000    | 1,000                         | 1,000                                  |
| 11                 | -                               | -                     | -                                              | -        | -                             | -                                      |
| 12                 | -                               | -                     | -                                              | -        | -                             | -                                      |
| 13                 |                                 | 0,691                 | 0,409                                          | 0,675    | 0,843                         | 1,000                                  |
| 14                 | 0,277                           | 0,622                 | 0,587                                          | 0,649    | 1,000                         | 1,000                                  |
| 15                 | 0,292                           | 0,881                 | 0,514                                          | 0,739    | -                             | 1,000                                  |
| 16                 | 0,182                           | 1,000                 | -                                              | 0,609    | 1,000                         | 1,000                                  |
| 17                 | -                               | -                     | -                                              | -        | -                             | -                                      |
| 18                 | 0,208                           | 1,000                 | 1,000                                          | 0,344    | -                             | 1,000                                  |
| 19                 | 0,236                           | 0,820                 | 0,488                                          | 0,831    | 1,000                         | 1,000                                  |
| 20                 | -                               | 1,000                 | 0,642                                          | 1,000    | 0,744                         | 1,000                                  |
| 21                 | 0,433                           | 0,883                 | 0,244                                          | -        | 1,000                         | 1,000                                  |
| 22                 | 0,462                           | 0,700                 | 0,608                                          | 0,643    | 1,000                         | 0,875                                  |
| 23                 | 0,250                           | 0,333                 | -                                              | 1,000    | -                             | 1,000                                  |
| 24                 | 0,231                           | 0,546                 | 1,000                                          | 1,000    | 1,000                         | 1,000                                  |
| 25                 | 0,313                           | 0,908                 | 0,405                                          | 0,621    | 1,000                         | 1,000                                  |

## 12. Presentes para as crianças

Após a aplicação do questionário de pesquisas e coleta de saliva e das medidas, na mãe e na criança, a entrevistadora entregou para a mãe uma lembrança da Coorte de 2015. O brinde era um livro de pintar e giz de cera com o logo da Coorte de 2015 (Figura 13).



Figura 13. Brinde oferecido aos participantes

## 13. Uniformes

No início do trabalho de campo foram disponibilizadas camisetas com logo da coorte para serem utilizados nas entrevistas realizadas na clínica e no domicílio, para identificação delas, além do crachá.

#### 14. Números finais do acompanhamento dos 48 meses

No acompanhamento dos 48 meses, foram realizadas 4.010 entrevistas, de 4.208 elegíveis para o acompanhamento. O total de perdas no período foi de 89 e 109 de recusas. Por fim, o percentual de acompanhamento foi de 95,4% [(entrevistados + óbitos do nascimento aos 48 meses) / total de crianças do Perinatal). Seguem as taxas de resposta dos acompanhamentos até os 48 meses:

##### **Taxa do perinatal =**

Entrevistados no PERI / (Elegíveis - FM) =  $4275 / (4387 - 54) = 0,986614 = 98,7\%$ .

##### **Taxa dos 3 meses =**

(Entrevistados + Óbitos) / total da coorte =  $(4110 + 46) / 4275 = 0,972164 = 97,2\%$ .

##### **Taxa dos 12 meses =**

(Entrevistados + Óbitos) / total da coorte =  $(4018 + 59) / 4275 = 0,953684 = 95,4\%$ .

##### **Taxa dos 24 meses =**

(Entrevistados + Óbitos) / total da coorte =  $(4014 + 64) / 4275 = 0,953918 = 95,4\%$ .

##### **Taxa dos 48 meses =**

(Entrevistados + Óbitos) / total da coorte =  $(4010 + 67) / 4275 = 0,953684 = 95,4\%$ .

A descrição detalhada dos números do acompanhamento dos 48 meses pode ser observada na figura 14.

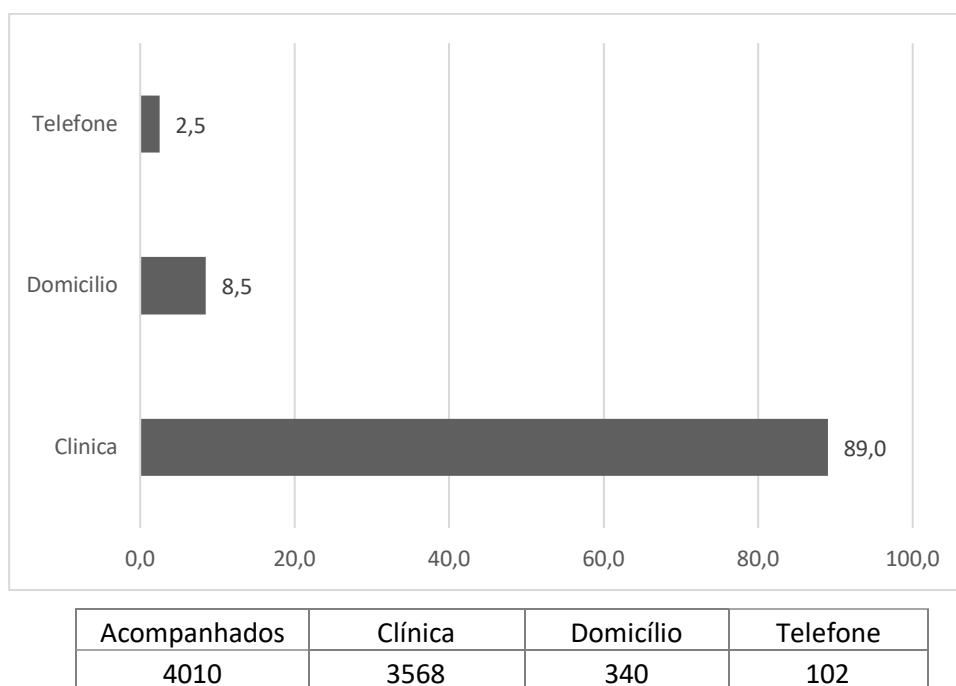


Figura 14. Números finais do acompanhamento dos 48 meses da coorte de 2015

#### 14.1. Ajuda de custo para transporte intermunicipal

Das mães que estiveram na clínica do Centro de Pesquisa Epidemiológicas para o acompanhamento dos 48 meses da Coorte de 2015, 51 receberam ajuda de custo para deslocamento desde outras cidades. Esta ajuda de custo era calculada através do valor da passagem de ônibus da cidade de residência do participante até a cidade de Pelotas, ida e volta. O valor era repassado a mãe ou responsável, junto à ajuda de custo oferecida a todos os participantes, e era solicitada a apresentação de comprovante de passagens ou pedágio (se havia utilizado veículo próprio para deslocamento) além do comprovante de residência (Tabela 5).

Tabela 5. Descrição das entrevistas com ajuda de custo para deslocamento intermunicipal

| <b>Cidade</b>        | <b>N</b>  |
|----------------------|-----------|
| Santa Catarina       | 8         |
| Rio Grande           | 8         |
| Santa Vitoria        | 8         |
| Porto Alegre         | 4         |
| Canguçu              | 3         |
| Capão Do Leão        | 2         |
| Caxias Do Sul        | 2         |
| Piratini             | 2         |
| São Lourenço         | 2         |
| Barra Do Quaraí      | 1         |
| Cachoeirinha         | 1         |
| Herval               | 1         |
| Jaguarão             | 1         |
| Morro Redondo        | 1         |
| Quaraí               | 1         |
| Santa Cruz do Sul    | 1         |
| Santana da Boa Vista | 1         |
| Santo Ângelo         | 1         |
| Tramandaí            | 1         |
| Turuçu               | 1         |
| Vacaria              | 1         |
| <b>Total</b>         | <b>51</b> |

#### 14.2. Entrevista domiciliar fora de Pelotas

Do total de entrevistas domiciliares, 22 (6,5%) foram realizadas fora da cidade de Pelotas (Tabela 6). As entrevistadoras se deslocavam em duplas até cidades dentro do estado do Rio Grande do Sul, onde entrevistas previamente agendadas eram realizadas além de buscas ativas às mães sem contato telefônico cujo cadastro informava que residiam na cidade.

Tabela 6. Descrição das entrevistas realizadas fora de Pelotas

| <b>CIDADE</b>           | <b>N</b>  |
|-------------------------|-----------|
| Bagé                    | 2         |
| Caxias                  | 2         |
| Pedras Altas            | 2         |
| Piratini                | 2         |
| Rio Grande              | 2         |
| Santa Vitória Do Palmar | 2         |
| São José do Norte       | 2         |
| Alvorada                | 1         |
| Canoas                  | 1         |
| Herval                  | 1         |
| Pedro Osorio            | 1         |
| Pinheiro Machado        | 1         |
| Quinta                  | 1         |
| São Leopoldo            | 1         |
| Tapes                   | 1         |
| <b>TOTAL</b>            | <b>22</b> |

## ARTIGO DE REVISÃO

---

Publicado na revista “*BMC Psychiatry*” em julho de 2020



RESEARCH ARTICLE

Open Access



# Effects of parenting interventions on child and caregiver cortisol levels: systematic review and meta-analysis

Rafaela Costa Martins<sup>1,2\*</sup> , Cauane Blumenberg<sup>2</sup>, Luciana Tovo-Rodrigues<sup>1,2</sup>, Andrea Gonzalez<sup>3</sup> and Joseph Murray<sup>1,2</sup>

## Abstract

**Background:** Nurturing care, in which children are raised in engaging and safe environments, may reduce child stress and shape hypothalamic-pituitary-adrenal axis functioning. Hence, parent-training programs may impact child cortisol levels, as well as behavioral, social and health outcomes. We conducted a systematic review of the impact of parent-training interventions on children's and caregivers' cortisol levels, and meta-analyzed the results.

**Methods:** In January 2020, searches in PubMed, LILACS, ERIC, Web of Science, Scielo, Scopus, PsycNET and POPLINE databases were conducted, and two independent researchers screened the results for eligible studies – randomized trials that assessed the impact of parent-training interventions on child or caregiver cortisol levels. Random effects were used to pool the estimates, separately for children and caregivers, and for children's morning and evening cortisol levels, as well as change across the day.

**Results:** A total of 27 eligible studies were found. Data from 19 studies were extracted and included in the meta-analyses, with 18 estimates of child cortisol levels and 5 estimates for caregiver cortisol levels. The pooled effect size (standardized mean difference) for the effects of parent training programs on morning child cortisol was 0.01 (95%CI: – 0.14 to 0.16;  $I^2$ : 47.5%), and for caregivers it was 0.04 (95%CI: – 0.22 to 0.30;  $I^2$ : 0.0%). Similar null results were observed for child evening cortisol and for the slope between morning and evening child cortisol. No evidence of publication bias was found.

(Continued on next page)

\* Correspondence: [rafamartins1@gmail.com](mailto:rafamartins1@gmail.com)

<sup>1</sup>Human Development and Violence Research Centre (DOVE), Federal University of Pelotas, Rua Marechal Deodoro 1160, Pelotas, RS 96020-220, Brazil

<sup>2</sup>Post-graduate Program in Epidemiology, Federal University of Pelotas, Pelotas, Brazil

Full list of author information is available at the end of the article



© The Author(s). 2020 **Open Access** This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated in a credit line to the data.

(Continued from previous page)

**Conclusion:** Existing evidence shows no effect of parent-training interventions on child or caregiver post-intervention cortisol. Researchers are encouraged to adopt standardized protocols to improve evaluation standards, to test for intervention effects on psychosocial outcomes that are theorized to mediate the effects on biomarkers, and to use additional biomarkers for chronic stress.

**Keywords:** Cortisol, Early interventions, Caregiver, Children, Adolescent, Meta-analysis, Systematic review

## Background

Nurturing care in childhood, combining parental warmth, sensitivity, stimulation, and clear limits enforced without violence, is associated with lifelong benefits for mental health, behavior, human capital, and social adjustment [1–4]. Randomized trials have demonstrated that parent-training programs can increase nurturing care, reduce child maltreatment, and improve children's outcomes through the life-course [5–7]. For example, trials of the Nurse-Family Partnership program [8], developed in the United States, found that children whose parents received home visits from nurses supporting family planning, competent caring, and healthy behaviors from pregnancy to child age 2 years, had better outcomes in terms of educational achievement [9], reduced antisocial behavior [10], risky sexual behavior [11], substance use [11], child abuse [10], and even reduced mortality [12].

The varied lifelong benefits of parent-training programmes may be underpinned by biological as well as psychological and social change. One potential biological mediator of their effects is change in cortisol levels in children or parents [13]. Cortisol is a hormone from the glucocorticoid family, produced in the adrenal glands and secreted by the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis as an end product in humans. Cortisol is critical in children's biological development and homeostatic maintenance, inducing appropriate responses to stress, including altered heart rate and immune system response [14]. The body's natural maintenance process, called homeostasis, is often disrupted by stressors, which induce adaptations in the organism to re-establish stability [15]. However, when an individual is exposed to prolonged and frequent adversity, cerebral resources involved in this biological regulation can be depleted, and dysregulation in the HPA axis may result in biological vulnerability and increased risk of disease. Children experiencing recurrent stress can develop dysregulated cortisol levels, as the HPA axis continues to develop throughout childhood. Consequences of this kind of toxic stress are a major topic of investigation [14, 16]. Observational studies have found strong associations between chronic stress and later mental, skin and cardiovascular diseases, as well as obesity and unhealthy behaviors, such as smoking and alcohol abuse [17–20].

Nurturing care, engaging and stable environments may reduce child stress and improve HPA axis functioning [4]. These benefits may arise either directly (by reducing harsh parenting), or indirectly (by providing a protective buffer in contexts of adverse social environments). Hence, parent-training programs have the potential to influence child cortisol levels, as well as behavioral, social and health endpoints. Altering cortisol regulation may represent an important mechanism by which parent-training programs affect long-term change.

There is some evidence suggesting parent-training interventions may alter cortisol levels. For example, one study carried out in the United States with mothers and newborn infants showed that a home-visiting program, training parents how to cope with caregiving challenges, lowered morning cortisol levels in children after 17 home visits [21]. Another trial in the United States tested the impact of providing caregivers with training sessions about coping with personal issues, supporting children's regulatory capabilities and managing child behavior, for children in foster care. Results showed that this early intervention reduced children's stress levels – indicated by morning to evening cortisol [22].

Slopen and colleagues systematically reviewed studies published up to 2012 on the impact of any type of psychosocial intervention – not restricted to parent-training – on child cortisol levels [13]. Nineteen quasi-experiments and randomized trials were included, that evaluated either parent-focused or child-focused interventions. Overall, 18 studies reported significant effects on child cortisol levels and reactivity. However, results were mixed (some showing increases, and others decreases in cortisol levels); the results were not pooled in meta-analysis. Hackman and colleagues meta-analyzed 28 observational studies and 10 intervention studies up to 2017, focusing on parental warmth and its effects on child cortisol levels. They found a small, but long-term, effect of affectionate parenting on children's HPA axis regulation [23]. The aim of the present study is to conduct an updated systematic review of the impact of all parent-training interventions on both child and carer cortisol levels, restricting the synthesis to the best quality studies (randomized controlled trials), and to meta-analyze the results.

## Methods

We conducted a systematic review of studies that evaluated the impact of parent-training interventions on children's cortisol levels. We searched PubMed, LILACS, ERIC, Web of Science, Scielo, Scopus, PsycNET and POPLINE databases. The literature search was run on January 2, 2020, without restriction by date of publication. The combinations of terms used were: (cortisol OR HPA OR hypothalamic pituitary adrenal axis OR hypothalamic-pituitary-adrenocortical OR glucocorticoid OR hydrocortisone) AND (parent\* intervention OR parent\* training OR parent\* program OR parent\* education OR maternal intervention OR maternal training OR maternal education OR maternal program OR family intervention OR family training OR family education OR family program) AND (randomized controlled trial\* OR trial OR intervention OR experiment OR random allocation OR controlled clinical trial OR early intervention OR intervention study). No limits were applied for the search.

Studies must have met the following eligibility criteria to be included in the review: (a) human studies including children between 0 and 18 years of age; (b) trials that allocated their participants to intervention or control group status using randomization (RCTs); (c) the intervention was a parent-training program involving either caregivers only, children and caregivers, or the entire family; (d) the impact of the intervention was tested for the child or carer's diurnal cortisol levels or reactivity; (e) the results were published in articles, monographs, dissertations, conference papers, thesis, books or chapters (or were available directly from the authors).

The first author conducted the search. Two researchers carried out the process of reading the titles, abstracts and full texts independently and, in case of divergence they tried to reach a consensus. If a disagreement persisted, a third researcher was involved to resolve the inconsistency. The reference lists of selected articles, Slopen's [13] review, and Hackman's [23] meta-analysis were scrutinized to identify any additional study eligible for inclusion in the analysis. If a study result was published in more than one report (e.g., an article, conference paper, book chapter), only the journal article was included. Also, if the same sample and intervention resulted in more than one journal article, one was selected for inclusion (giving preference to the article that included the entire sample or analysis that was more comparable with the majority of the other included studies).

The following information was extracted for each study: authors, year of publication, country in which the study was conducted, sample size, type of population (e.g., foster care, high risk families), age range of the children, type of parental intervention, duration and frequency of the intervention, type of biological sample

collected to measure cortisol (e.g., saliva, urine, hair), type of cortisol measure (diurnal or reactivity), number of times that cortisol was collected at each assessment, cortisol inter- and intraassay, and method used for cortisol levels measurement (e.g., ELISA, radioimmunoassay). Results were recorded in terms of cortisol levels at post-intervention for control and interventions groups, if that information was available, as well as the effect size, and the standard deviation/standard error/confidence intervals.

To assess the methodological quality of included studies we used the Jadad Scale, a scoring system for clinical trials [24]. The scale has seven items and studies receive an overall score ranging from 0 (bad) to 5 (good), derived as the sum of the first 5 items (scored 0 or +1) and the last two questions (scored 0 or -1). The scale considers blinding, dropouts and randomization. As double blinding is not possible for parent-training interventions, we considered only questions regarding dropouts and randomizations. As such, the range of possible scores for included studies was from 0 to 3 points.

This systematic review was registered in PROSPERO (International Prospective Register of Systematic Reviews) [25] with registration number CRD42019120257. The PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analysis) Statement [26] was used to model this manuscript.

Three separate meta-analyses were performed: one for the impact of parent-training programs on children's and caregivers' morning cortisol levels, one for the impact of parent-training programs on children's evening cortisol levels, and one for the difference of morning and evening cortisol levels in children (change through the day). One author extracted the data of the selected articles, as means and standard deviations wherever possible, and then calculated standardized mean differences as the effect size, with respective confidence intervals. The standardized mean difference represents the mean value in post-intervention for the intervention group minus the mean for the control group, expressed in standard deviation units. Whenever the necessary data was had not been published, emails were sent to authors to request the appropriate information.

Some studies reported multiple post-intervention measures of cortisol. For those, a single outcome was selected for use in the meta-analysis, as follows: a) where multiple measures were available during the same day, separate analyses were run for each time of day (morning vs. evening); b) where multiple morning or multiple evening cortisol measures were available across different days, an average was calculated; c) where cortisol measures were available from both before and after a research-applied stressor, the pre-stress measure was selected for morning cortisol meta-analysis and the

individual results of the reactivity study was included in a different meta-analysis.

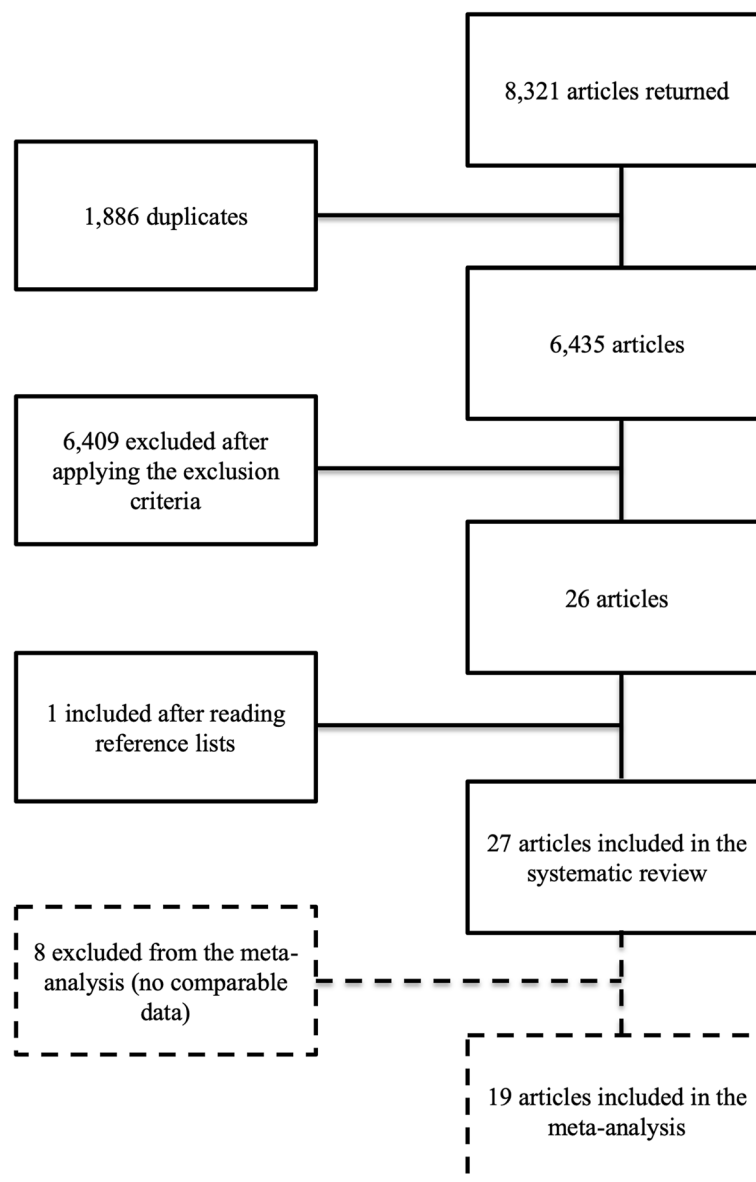
Some studies reported cortisol levels in the logarithmic scale but did not specify which transformation was used ( $\log_{10}$  or natural). For those studies, we assumed the most common transformation was applied (the natural logarithm). Because this could not be confirmed, we performed a sensitivity analysis assuming  $\log_{10}$  for the same study.

For each meta-analysis, pooled estimates were obtained using a random effects model. Heterogeneity was calculated using the I-squared statistic. We examined funnel plots and conducted the Egger test for studies of child morning cortisol only, given the small number of

studies of caregiver morning cortisol levels and for child evening cortisol levels [27]. All of the analyses were conducted using the *metan* and *metareg* commands in STATA 15.1 (StataCorp., College Station, TX, USA).

## Results

The search returned 8321 articles, 1886 of which were duplicates (see Fig. 1). After two individuals read the remaining titles and abstracts, 79 articles were selected for reading full texts. Of those, 52 articles were excluded because of the following reasons: 3.9% were review papers; 25.0% were not randomized (or this information was not reported); 7.7% had no intervention; 49.9% were not parent-training interventions; 1.9% did not involve the



**Fig. 1** Flowchart showing the selection of articles for the systematic review and the meta-analysis

caregiver in the intervention; 3.9% described a subset of results from an already selected article; 1.9% did not measure cortisol; 5.8% occurred entirely or partially during pregnancy (before children could be involved in the intervention).

A total of 27 studies were identified as eligible for the review. Of these, 19 studies had not been included in the previous review by Slopen et al. [13], and 14 had not been included in the review by Hackman et al. [23]. Of the 27 studies eligible for our review, eight were narratively reviewed but could not be included in a meta-analysis: one because it measured hair cortisol (unlike all others), three because the means or the measures of variance were not available, and four because the study data were not comparable to the others in terms of analyses and types of results.

Of the 19 studies that could be included in the meta-analyses, 14 provided estimates for the impact on cortisol for children only, three provided estimates for both children and caregivers, and one study had results for caregivers only – this last caregiver only study [28] had separate estimates for two different interventions – counting twice in the final number of analyzed studies. Hence, overall, the meta-analyses included 18 estimates for the impact of parent-training interventions on children's cortisol levels, and 5 estimates for caregivers' cortisol levels.

Table 1 summarizes the characteristics of the 27 studies included in the review. All but two of the studies were conducted in high-income countries. The sample sizes ranged from 20 to 240 dyads, with few studies ( $n = 4$ ) including over 150 randomized individuals. Most samples of children ( $n = 18$ ) were aged between 1 and 5 years. All of the studies but one collected saliva to measure cortisol. There was little consistency in the time of day that cortisol was measured, and one reactivity study did not report the time or period of the day that cortisol was measured. The length of follow-up after interventions were implemented varied widely too – from weeks to years. Where results from multiple follow-ups were reported in a single study, the results of the first assessment were selected for inclusion in the meta-analysis.

Table 2 describes, for each of the 27 individual studies included in the review, their sample characteristics, details of the intervention, and methodological quality. In terms of the stated goals of the interventions, the great majority of studies evaluated programs aiming to improve affectionate or stimulating parenting, or other positive interaction with children; while others had the stated goal of improving overall child development, socio-emotional adjustment, or reducing externalizing behaviors.

All 27 described the intervention as randomized (100.0%), which was required for inclusion in this

**Table 1** Summary characteristics of studies included in the systematic review ( $n = 27$ )

| Characteristics                           | Number of studies (%) |
|-------------------------------------------|-----------------------|
| Year of publication                       |                       |
| 2000–2009                                 | 7 (25.9)              |
| 2010–2019                                 | 20 (74.1)             |
| Country                                   |                       |
| United States                             | 20 (74.1)             |
| Netherlands                               | 3 (11.1)              |
| Argentina                                 | 1 (3.7)               |
| Canada                                    | 1 (3.7)               |
| Iran                                      | 1 (3.7)               |
| Switzerland                               | 1 (3.7)               |
| Sample size                               |                       |
| < 100                                     | 14 (51.9)             |
| 100 < $n$ < 150                           | 9 (33.3)              |
| $\geq 150$                                | 4 (14.8)              |
| Children's mean age at baseline           |                       |
| < 1 year                                  | 4 (14.8)              |
| $\geq 1$ year and < 5 years               | 18 (66.7)             |
| $\geq 5$ years                            | 5 (18.5)              |
| Type of population                        |                       |
| High-risk families <sup>a</sup>           | 6 (22.2)              |
| Foster care/Adopted children              | 8 (29.7)              |
| Hospitalized-based                        | 3 (11.1)              |
| Maltreated children                       | 3 (11.1)              |
| Caregiver's death, sick or divorced       | 4 (14.8)              |
| General population                        | 3 (11.1)              |
| Cortisol outcome                          |                       |
| Saliva (diurnal)                          | 16 (59.3)             |
| Saliva (reactivity)                       | 10 (37.0)             |
| Hair                                      | 1 (3.7)               |
| Technique used for biological analysis    |                       |
| Enzyme immunoassay (EIA)                  | 13 (48.2)             |
| Radioimmunoassay                          | 3 (11.1)              |
| Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) | 3 (11.1)              |
| Other techniques                          | 4 (14.8)              |
| Not described                             | 4 (14.8)              |
| Cortisol intraassay < 10%                 |                       |
| Yes                                       | 19 (70.4)             |
| No                                        | 0 (0.0)               |
| Not described                             | 8 (29.6)              |
| Cortisol interassay < 10%                 |                       |
| Yes                                       | 15 (55.6)             |
| No                                        | 3 (11.1)              |
| Not described                             | 9 (33.3)              |

<sup>a</sup>Children from poor families, or with depressed mothers, or mothers that abuse of illegal substances, or in the Child Protective Service records, or sibling of an adjudicated youth

**Table 2** Characteristics of individual studies included in the systematic review

| Authors                                                 | Country       | Sample size (i:C) | Frequency and duration of intervention                                                                                                         | Aim of parental intervention                                                                                                                      | Cortisol measure       | Time of measurements                                | Number of measurements                                                      | Jadad Score |
|---------------------------------------------------------|---------------|-------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------|-----------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|-------------|
| Bakermans-Kranenburg MJ et al. (2008) [29] <sup>b</sup> | Netherlands   | 130 (66:64)       | 6 monthly sessions (1 h30 each)                                                                                                                | To stimulate parents' sensitive interactive skills (focusing on sensitive discipline) to prevent further increase of child externalizing problems | Diurnal                | Wake-up, before lunch and bedtime                   | 3                                                                           | 2           |
| Berlin LJ et al. (2019) [30]                            | United States | 153 (76:77)       | 10 weekly sessions                                                                                                                             | To provide nurturance, to follow the child's lead with delight and to avoid intrusive and frightening behaviors                                   | Reactivity             | 24% before 10 am, 40% 10 am-1 pm, 36% 1 pm or later | 4 (pre-task, 5 min post-task, 20 min post-task, 40 min post-task)           | 2           |
| Bernard K et al. (2015) [31] <sup>c</sup>               | United States | 212 (100:112)     | 10 weekly sessions (1 h each)                                                                                                                  | To help parents become more synchronous and nurturing, and less frightening, in their interactions with their children                            | Diurnal                | Wake-up and bedtime                                 | 2                                                                           | 2           |
| Bernard K et al. (2015) [32] <sup>c</sup>               | United States | 101 (56:45)       | 10 weekly sessions (1 h each)                                                                                                                  | To help parents become more synchronous and nurturing, and less frightening, in their interactions with their children                            | Diurnal                | Wake-up and bedtime                                 | 2 (over 3 days)                                                             | 2           |
| Bernard K et al. (2015) [33] <sup>c</sup>               | United States | 115 (54:61)       | 10 weekly sessions                                                                                                                             | To increase resilience to distress, increase synchronous interactions, and decrease frightening parental behavior                                 | Diurnal                | 30 min after wake-up and bedtime                    | 2 (over 3 days)                                                             | 3           |
| Borghini A et al. (2009) [34]                           | Switzerland   | 80 (40:40)        | 4 to 5 sessions in a 4-month period (1 h30 each)                                                                                               | To improve the quality of the parent-baby relationships by helping parents to better understand children and support development                  | Reactivity and diurnal | 8 h, 12 h, 14 h, 14 h20, 14 h40, 16 h, 20 h         | 7                                                                           | 1           |
| Brotman LM et al. (2007) [35]                           | United States | 92 (47:45)        | 22 weekly sessions (90 min individually + 30 min parent-child each) + 10 biweekly sessions (90 min each) + 6 sessions in a 6 to 8-month period | To improve parenting practices and preschoolers' social competence with the goal of preventing later conduct problems                             | Reactivity and diurnal | Morning (40%) and afternoon (60%)                   | 2 (pre-task and post-task) + 4 times a week after (7 am, 12 am, 4 pm, 8 pm) | 1           |
| Bugental DB et al. (2010) [21] <sup>d</sup>             | United States | 147               | 17 sessions in a                                                                                                                               | To assist parents to                                                                                                                              | Diurnal                | Mid-morning                                         | 1                                                                           | 1           |

**Table 2** Characteristics of individual studies included in the systematic review (Continued)

| Authors                                     | Country       | Sample size (I:C) | Frequency and duration of intervention             | Aim of parental intervention                                                                                                                                                                                                        | Cortisol measure | Time of measurements | Number of measurements                           | Jadad Score |
|---------------------------------------------|---------------|-------------------|----------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|----------------------|--------------------------------------------------|-------------|
| Cicchetti D et al. (2011) [36] <sup>b</sup> | United States | 91 (69:78)        | 1-year period + possible visits in a 3-year period | acquire cognitive resources (skills in obtaining information relevant to child development, knowledge about effective ways to manage caregiving challenges and ways to obtain information and make contact with community agencies) | Diurnal          | Mid-morning (10 am)  | 1                                                | 1           |
| DePasquale CE et al. (2018) [37]            | United States | 66 (34:32)        | 10 weekly sessions                                 | To enhance nurturance and synchrony while reducing frightening behavior in at-risk families                                                                                                                                         | Reactivity       | Mid-morning (10 am)  | 3 (pre-task, 15 min post-test, 30 min post-task) | 2           |
| Dozier M et al. (2006) [22]                 | United States | 60 (30:30)        | 10 weekly sessions (1 h each)                      | To help caregivers override their own issues that interfere with providing nurturing care, and provide an environment that helps children develop regulatory capabilities                                                           | Diurnal          | Wake-up and bedtime  | 2 (over 2 days)                                  | 1           |
| Dozier M et al. (2008) [38]                 | United States | 93 (46:47)        | 10 weekly sessions (1 h each)                      | To help parents become more synchronous and nurturing, and less frightening, in their interactions with                                                                                                                             | Reactivity       | –                    | 3 (pre-task, 15 min post-test, 30 min post-task) | 1           |



**Table 2** Characteristics of individual studies included in the systematic review (Continued)

| Authors                                     | Country       | Sample size (i:C) | Frequency and duration of intervention                                                                           | Aim of parental intervention                                                                                                                                                                                | Cortisol measure | Time of measurements                                                        | Number of measurements                                      | Jadad Score |
|---------------------------------------------|---------------|-------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|-----------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|-------------|
| Fisher PA et al. (2007) [39]                | United States | 117 (57:60)       | 6 to 9 months of intensive training (12 h) + daily calls + weekly sessions for children and parents individually | their children<br>To address the developmental and social-emotional needs of foster preschoolers                                                                                                            | Diurnal          | 30 min after wake-up and 30 min before bedtime                              | 2 (day 1) + 2 (day 2) for 12 months                         | 1           |
| Fisher PA et al. (2008) [40] <sup>b</sup>   | United States | 117 (57:60)       | 6 to 9 months of intensive training (12 h) + Daily calls + weekly sessions for children and parents individually | To address the developmental and social-emotional needs of foster preschoolers                                                                                                                              | Diurnal          | 30 min after wake-up and 30 min before bedtime                              | 2                                                           | 1           |
| Habersaat S et al. (2014) [41] <sup>b</sup> | Netherlands   | 60 (30:30)        | 1 session (60–80 min) + 3 sessions (10 min)                                                                      | To enhance parent's observation and understanding of the specific competencies of their preterm infant and promoting parents' sensitivity and responsiveness toward the infant's behavioral characteristics | Diurnal          | Wake-up (8 h), before meal at noon, afternoon (17 h), before bedtime (20 h) | 4 (over 2 days)                                             | 2           |
| Letourneau N et al. (2011) [42]             | Canada        | 60 (27:33)        | 12 weekly sessions                                                                                               | To teach new mothers about maternal–infant interactions, contingent responsiveness, and to provide support for postpartum depressed mothers                                                                 | Diurnal          | Wake-up, noon, mid-afternoon, bedtime                                       | 4                                                           | 2           |
| Luecken LJ et al. (2010) [43]               | United States | 139 (78:61)       | 12 weekly sessions (2 h of interaction + 12 min of discussion)                                                   | To increase positive caregiver–child relationships, effective discipline, and to decrease children's exposure to stressful events                                                                           | Reactivity       | Afternoon/evening (between 3 and 9 pm)                                      | 4 (pre-task, post-task, 15 min post-task, 30 min post-task) | 1           |
| Luecken LJ et al. (2014) [44] <sup>b</sup>  | United States | 139 (78:61)       | 12 weekly sessions (2 h)                                                                                         | To increase the positive quality of the caregiver–child relationship, enhance caregivers'                                                                                                                   | Reactivity       | Pre-task, post-task, 15 min post-task, 30 min post-task                     | 4                                                           | 2           |



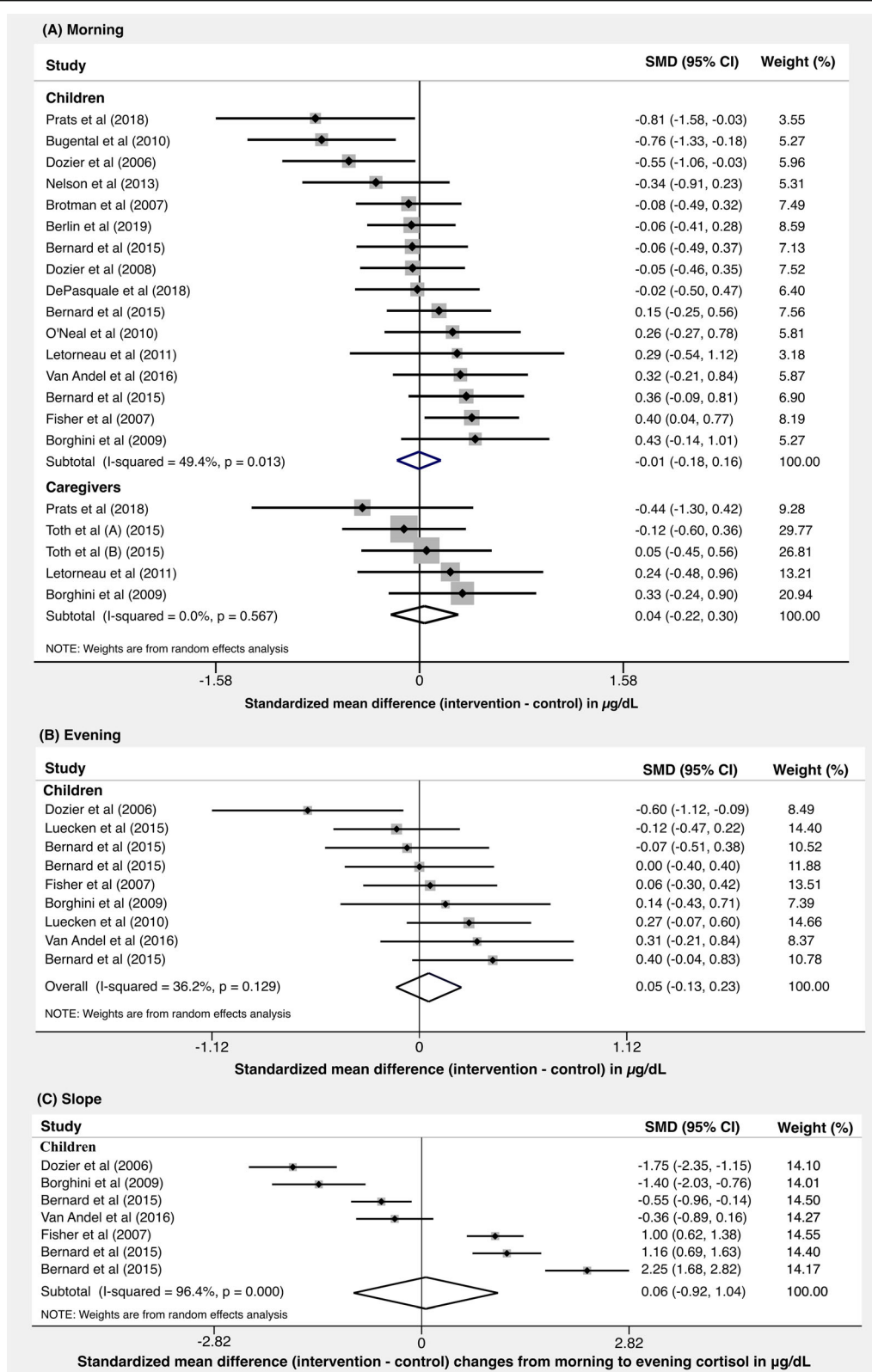
**Table 2** Characteristics of individual studies included in the systematic review (Continued)

| Authors                                           | Country       | Sample size (I:C)  | Frequency and duration of intervention                                                                 | Aim of parental intervention                                                                                                                                                                                           | Cortisol measure | Time of measurements                                                                           | Number of measurements                                      | Jadad Score |
|---------------------------------------------------|---------------|--------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|-------------|
| Luecken LJ et al. (2015) [45]                     | United States | 240 (164:76)       | 11 group sessions and 2 individual sessions in a 15-year period (1 h45)                                | use of effective discipline, decrease caregiver mental health problems, decrease children's exposure to stressful events, improve youth coping skills, and to promote adaptive beliefs about why negative events occur | Reactivity       | Morning and evening                                                                            | 4 (pre-task, post-task, 20 min post-task, 40 min post-task) | 2           |
| Nelson EM et al. (2013) [46]                      | United States | 54 (not described) | 10 weekly sessions (1.5 h)                                                                             | To improve mother-child relationship quality and effective discipline, to decrease barriers between the mother and child, and to decrease interparental conflict                                                       | Reactivity       | On arrival, before task, 30 min post-task, 45 min post-task, next morning 30 min after wake-up | 5                                                           | 2           |
| O'Neal CR et al. (2010) [47]                      | United States | 92 (47:45)         | 22 sessions for parents + 22 sessions for preschoolers + 22 parent-child interactions + 10 home visits | To encourage parents to use nonharsh, consistent, and appropriate disciplinary strategies, be less critical, use positive reinforcement and promote children's social competence                                       | Diurnal          | Majority in the afternoon, but some mid-morning                                                | 1                                                           | 1           |
| Pirnia B et al. (2019) [48] <sup>b</sup>          | Iran          | 50 (22:28)         | 12 weekly sessions                                                                                     | To improve communication in children and to practice interactive discipline in parents                                                                                                                                 | Diurnal          | Not described                                                                                  | 3                                                           | 2           |
| Poehlmann-Tynan J et al. (2019) [49] <sup>b</sup> | United States | 39 (25:14)         | 8 weekly sessions (2 h)                                                                                | To cultivate mindfulness, self-compassion, equanimity and compassion to others, and its applications to                                                                                                                | 3 cm of hair     | NA                                                                                             | NA                                                          | 2           |

**Table 2** Characteristics of individual studies included in the systematic review (Continued)

| Authors                                   | Country       | Sample size (I:C) | Frequency and duration of intervention     | Aim of parental intervention                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | Cortisol measure | Time of measurements                                    | Number of measurements | Jadad Score |
|-------------------------------------------|---------------|-------------------|--------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|---------------------------------------------------------|------------------------|-------------|
| Prats LM et al. (2018) [50]               | Argentina     | 46 (23:23)        | 13 weekly sessions (50 min)                | parenting<br>To promote cognitive development of children through the promotion of parenting practices                                                                                                                                                                                                                                              | Diurnal          | Morning (8 h30 to 9 h) and night                        | 2                      | 2           |
| Toth SL et al. (2015) [28] <sup>a</sup>   | United States | 157 (44/34:27)    | 48 weekly sessions                         | Intervention I: to improve the mother-child relationship, through the provision of developmental guidance based on maternal concerns. Intervention II: to improve current concerns about parental education, maternal stress, and social support encouraging mothers to seek further education and employment and enhanced informal social support. | Diurnal          | Mid-morning (as close as 10 am)                         | 1                      | 1           |
| Turpyn CC et al. (2019) [51] <sup>b</sup> | United States | 20 (10:10)        | 8 weekly sessions (2 h)                    | To promote mindfulness intervention, focusing on parenting interactions                                                                                                                                                                                                                                                                             | Reactivity       | Pre-task, post-task, 15 min post-task, 30 min post-task | 4                      | 3           |
| Van Andel H et al. (2016) [52]            | Netherlands   | 123 (65:58)       | Every 2 weeks in a 3-month period (90 min) | To help foster caregivers interpret the interaction with their child                                                                                                                                                                                                                                                                                | Diurnal          | Wake-up and bedtime                                     | 2                      | 2           |

<sup>a</sup>The study has two different interventions and a control group. <sup>b</sup>Studies that were included in the systematic review only. <sup>c</sup>Those are not estimates from the same study, they are different papers published in the same year. <sup>d</sup>The sample size of the intervention and control groups could not be determined because only the total sample size was reported – based on the total sample size, we estimated the number of individuals in each group using the values of another paper from the same project [53]



**Fig. 2** Meta-analysis of the impact of parent-training interventions on cortisol levels in children-caregivers' dyads in the (a) morning, (b) evening, and (c) changes from morning to evening

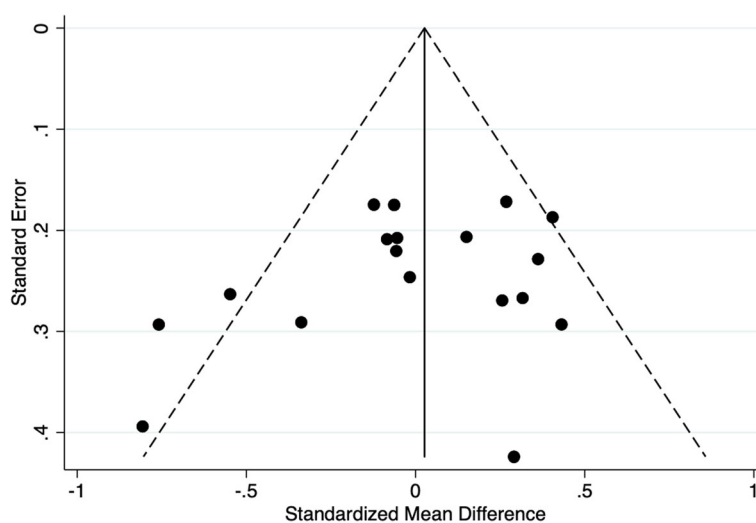
review, though only two (7.4%) described the randomization method (both studies used an appropriate method). These same two articles reported the randomization method, scoring 3 on the Jadad quality scale (the maximum score possible), but the majority of the articles scored only 2 points (51.9%). Only twelve studies (44.4%) reported on withdrawals and dropouts. The mean number of saliva samples collected was two for diurnal and four for reactivity studies. Regarding the 10 reactivity studies, several stressors were used before the cortisol measurement: a) Strange Situation ( $n = 5$ ); b) Discussion task ( $n = 3$ ); c) Trier Social Stress Task ( $n = 1$ ); d) Social Challenge ( $n = 1$ ).

Figure 2 presents the meta-analytic results for studies of morning cortisol levels separately for children and caregivers (A), and evening cortisol levels for child cortisol levels (B). Effect sizes represents the standardized mean difference between the values of cortisol in the intervention group and the control group at post-intervention assessment. The pooled effect of morning cortisol levels (Fig. 2a) was nearly zero for both children (0.01; 95%CI: -0.14 to 0.16;  $I^2$ : 47.5%) and caregivers (0.04; 95%CI: -0.22 to 0.30;  $I^2$ : 0.0%). The pooled effect of evening cortisol levels for children (Fig. 2b) was also nearly zero ( $d = 0.04$ ; 95%CI: -0.18 to 0.26;  $I^2$ : 39.7%). No meta-analysis of evening levels for caregivers was possible, given only one study reported results from this outcome. Figure 2c shows results for the effect of the parental interventions on changes in child cortisol levels across the day (morning minus evening values). The pooled effect for this change across the day was 0.06 (95%CI, -0.92 to 1.04;  $I^2$ : 96.4%). The individual means and standard deviations used to calculate effect sizes for the meta-analyses can be found in supplementary Tables 1 and 2.

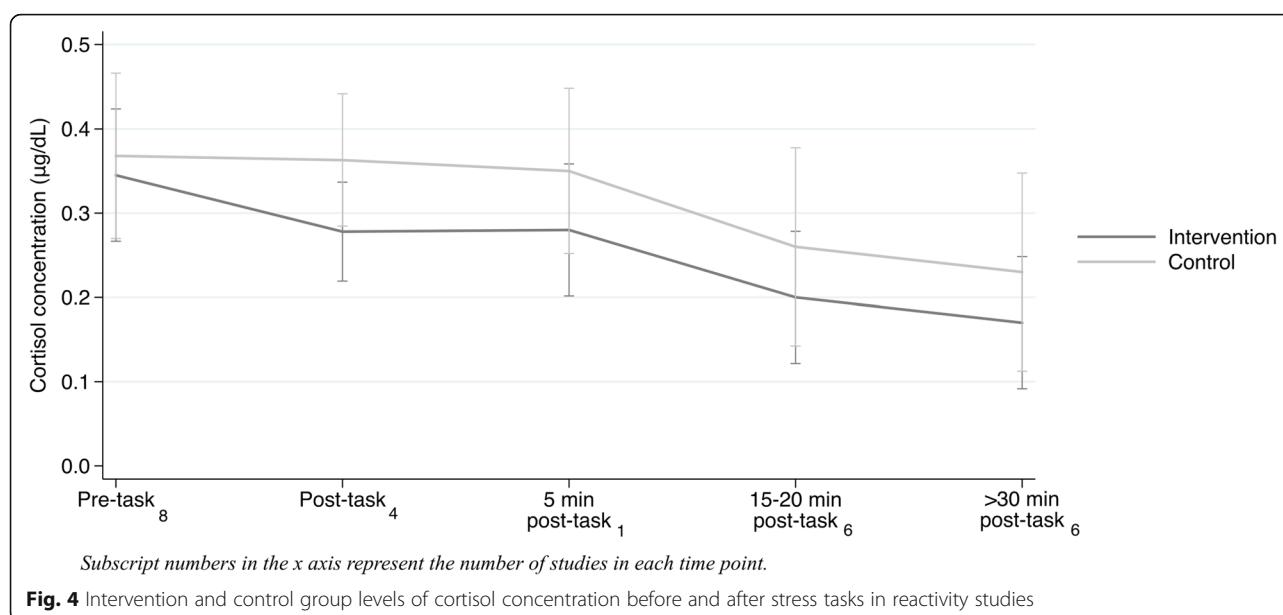
We conducted sensitivity analysis for results on children's morning cortisol levels (for which the most studies were available). Re-running these analyses, instead of assuming that studies used a natural log for cortisol measures, where the scale was not actually reported, we used instead a  $\log_{10}$  scale to calculate the effect sizes, but this showed no difference in the results. As shown in Fig. 3 we found no evidence of publication bias, analysing children's morning cortisol results (Egger test  $p$ -value  $> 0.05$ ).

We used meta-regression to test if the age of the children at baseline ( $< 1$  year,  $\geq 1$  year and  $< 5$  years,  $\geq 5$  years) would modify the results. No difference was found (morning  $p = 0.15$ , evening:  $p = 0.95$ ; across the day:  $p = 0.33$ ). The specific time of data collection, both for morning and evening cortisol data collection, differed across the studies. As such, we used meta-regression to test if the time at which cortisol was collected in the morning (immediately after wake-up, 30 min after wake-up, mid-morning, or morning and afternoon in the same study) or in the evening (afternoon and evening in the same study, 8 pm, 30 min before bedtime, or at bedtime) influenced the estimate of the impact of parenting interventions on child cortisol level. No difference was found across these time categories (morning  $p = 0.59$ ; evening  $p = 0.89$ ).

Figure 4 shows the results for the eight studies that examined effects of parent-training on child cortisol reactivity. The graph shows the average level of cortisol, separately for intervention and control groups, prior to children being exposed to a stressor task, immediately post-task, and 5, 15–20, and  $> 30$  min later. As can be seen, from relatively similar pre-intervention levels, there is some divergence in post-intervention measures – with the intervention group showing slightly lower values



**Fig. 3** Funnel plot: standardized mean differences between intervention and control group in post-intervention child morning cortisol levels



compared to the control group, but all differences were not significant ( $p > 0.22$  in all periods of saliva collection).

Considering the eight studies that were eligible for the current review, but could not be included the meta-analyses, findings were also mixed. In one study, cortisol levels were reduced, but only for children with the *DRD4* 7-repeat allele, a gene that moderated the effects of parenting-training on cortisol [29]. Three studies found no differences [36, 44, 51]. Habersaat found that the control group had lower cortisol levels than the intervention group in two post-intervention assessments [41]. In the study by Fisher and colleagues, there was a decrease in the mean cortisol level of the caregivers who participated in the intervention [40]. One other study measured hair cortisol in children and the results showed that the cortisol concentration was lower in the intervention group compared with the controls [49]. Because hair cortisol measures evaluate the average level of cortisol over several months prior to the sample being taken, these results were not comparable to the other studies included in the review (based on saliva and urine samples), and so could not be included in the meta-analysis [48].

## Discussion

We meta-analyzed the impact of parent-training interventions on child and caregiver cortisol levels. The results showed no discernible effect of parenting interventions on either outcome. This is an interesting null finding considering the extent of evidence for social and health benefits achieved by numerous parent-training programs [5, 12, 54–56]. If parenting

interventions affect other outcomes through the life-course, but not cortisol, then other social, psychological or biological mechanisms must explain those changes. For example, other mediators of the effects of parent-training programs on child antisocial behavior might be discipline strategies and child learning processes, or other parenting skills that do not necessarily affect cortisol levels [57, 58].

Slopen and colleagues [13] previously reviewed studies published on the impact of psychosocial interventions on child cortisol regulation up to 2012, with little consistency in the overall results. In a meta-analysis on parental warmth and cortisol, Hackman [23] also found inconsistent and overall null results among 28 prospective and 10 intervention studies up to 2017. The current review provides an updated meta-analysis focusing on parent-training programs, quantitatively pooling estimates across 18 intervention studies of child cortisol, and 5 studies of caregiver cortisol. The lack of average effects for children or their caregivers in the current review, and high variability in the results, are thus consistent with findings by Slopen et al. [13] and Hackman et al. [23].

One possible reason for why no effect on cortisol was observed in the current review would be if the interventions had not achieved more proximal changes in parent-child relationships or caregiving environments, that are required to subsequently change cortisol levels. Among the 27 studies reviewed here, only three [21, 30, 44] reported tests of the intervention on parenting practices, and all reported positive results. Two studies found that parenting significantly mediated intervention effects on child cortisol, and

one found a significant effect of the intervention on parenting practices, although no association was found between parenting and cortisol in that study. However, for all the other studies reviewed here, it is not clear if the interventions influenced caregivers and their parenting practices in a way that could subsequently have affected child cortisol. As such, it remains possible that no overall effects on cortisol were found in this meta-analysis because the interventions evaluated here were generally ineffective regarding more proximal parenting processes. Note that if this were the case, possibly other interventions, known to be more effective at changing parenting practices, would show cortisol effects.

Another possible explanation for the null results found in this meta-analysis is the low quality of many of the included studies. Generally, most had small samples and reporting on a number of methodological procedures was often poor, such that it is not clear, for example, whether adequate randomization methods were used; reporting on a number of methodological procedures was also often poor. In some studies it was clear that randomization had not succeeded in balancing intervention and control groups on baseline cortisol levels, and some studies did not report baseline values, which could have biased the results. Additionally, few studies reported that the analyses were conducted on an intention to treat basis.

It is also possible that the method by which cortisol was measured explains the varying individual study findings and null pooled effects. All but one study used saliva samples, which provide measures of acute cortisol levels (in terms of minutes), and are influenced by many possible concurrent factors, such as circadian rhythm, time of awakening and sleep patterns (e.g., naps for children), use of medicine, and exercise, as well as possible intervention effects. It is important to highlight that none of the studies evaluated in our review took into account other challenges that might have been present on the day cortisol was measured. Evidence suggests that difficult days are associated with higher levels of cortisol. For example, a study showed that losing an important soccer match had an impact on cortisol, elevating the concentration in saliva [59]. Among children recently starting child-care, higher levels of cortisol have been found than among children spending the day at home [60]. Thus, when saliva or other measures of acute cortisol are used, questionnaires evaluating perceived stress of the day when cortisol is collected is particularly important.

Saliva samples, unless repeated many times over weeks or months, do not measure the type of “toxic

stress” that is considered most damaging to development, and which parenting interventions may hope to influence. A new technique to obtain more relevant measures of chronic stress is to collect cortisol from hair samples. That approach, a proxy measure of the HPA axis activity over the previous months, evaluates chronic stress, which is less influenced by immediate variables, and may better capture parenting intervention effects not seen in the studies reviewed here [61, 62]. The single study using this method found that parent-training intervention can reduce chronic cortisol levels [49]. The use of markers like hair samples of cortisol in future studies might better represent the chronic stress that is considered so toxic for human functioning and development.

Even though the results of the current meta-analyses were null, the effectiveness of parent-training interventions on other important parent and child outcomes is well established. For example, parenting programs have been shown to reduce parental self-reported stress [63]; lower child internalizing [64] and externalizing [65] behaviors; reduce sleep problems [66] and excessive crying [67]. As such, even if parent-training programs do not affect acute cortisol levels, they are still important for improving other health and social outcomes [67, 68].

Other biological markers of intervention effects, including more studies on chronic levels of cortisol, should be investigated in future studies. In this review we focus on HPA axis function because it is the most widely studied mechanism explaining associations between early adversity and child outcome; however other viable candidates remain largely unexplored, specifically, inflammatory markers, neural structure and function and epigenetic modifications. These four factors have been identified as likely mediators of the biological embedding of early experiences and should be studied in future as modifiable factors within intervention programs [69].

The following limitations should be considered in relation to this review. Although the literature on cortisol outcomes following parent-training program is growing, we were still limited to meta-analyzing a relatively small number of primary studies. Although we tried to increase homogeneity across studies by selecting more comparable measures, cortisol is a hormone with varying patterns through early morning, mid-morning, late morning, afternoon and evening, and as the exact timing of the biological sample collection was different between studies, this could affect the results. There was also considerable variability between studies in the type of population that was sampled, the type, intensity and duration of the parent-training intervention, and other methodological characteristics (children’s age, length of follow-up, type of cortisol outcome) that could have affected



the results. Although ecological validity achieved by testing across multiple days and using a mix of weekdays and weekends is important, studies typically do not do that because of the burden to participants and expense of processing saliva samples – most studies in this review only evaluated children on 1 or 2 days.

## Conclusion

This meta-analysis found no effect of parent-training interventions on child or caregivers cortisol levels. There was no evidence of publication bias. However, researchers are encouraged to adopt standardized protocols to evaluate the effects of parent-training programs on cortisol mediated by parental practices, and also to use additional biomarkers for chronic stress that are less influenced by other variables.

## Supplementary information

**Supplementary information** accompanies this paper at <https://doi.org/10.1186/s12888-020-02777-9>.

**Additional file 1: Table S1.** Descriptive values of the first sample of child cortisol post-intervention – included in the metanalysis. **Table S2.** Descriptive values of the first sample of caregiver cortisol post-intervention – included in the metanalysis.

## Abbreviation

HPA: Hypothalamic-pituitary-adrenal

## Acknowledgements

The authors would like to thank Dr. Vanessa Iribarrem Avena Miranda for her help during the data extraction.

## Authors' contributions

RM conceived the study, performed the electronic search, evaluated articles for eligibility, extracted the data, interpreted the results, analysed the data, and wrote the manuscript; CB evaluated articles for eligibility, extracted relevant data, interpreted the results and analysed the data; LT interpreted the results and critically reviewed the manuscript; AG critically reviewed the manuscript; JM conceived the study, critically reviewed the manuscript. The author(s) read and approved the final manuscript.

## Funding

The Wellcome Trust (Investigator Award to JM - 210735\_Z\_18\_Z) supported staff costs, and the *Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES)* – Finance Code 001 – supported the studentship of RCM. Neither funding body played any role in the study design, data collection/analyses, interpretation of results or decision to publish.

## Availability of data and materials

Not applicable.

## Ethics approval and consent to participate

Not applicable.

## Consent for publication

Not applicable.

## Competing interests

The authors declare no conflict of interests.

## Author details

<sup>1</sup>Human Development and Violence Research Centre (DOVE), Federal University of Pelotas, Rua Marechal Deodoro 1160, Pelotas, RS 96020-220,

Brazil. <sup>2</sup>Post-graduate Program in Epidemiology, Federal University of Pelotas, Pelotas, Brazil. <sup>3</sup>Department of Psychiatry & Behavioural Neurosciences, McMaster University, Hamilton, Canada.

Received: 2 May 2019 Accepted: 5 July 2020

Published online: 15 July 2020

## References

- Britto PR, Lye SJ, Proulx K, Yousafzai AK, Matthews SG, Vaivada T, et al. Nurturing care: promoting early childhood development. *Lancet*. 2017;389: 91–102. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)31390-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)31390-3).
- Schimmmenti A, Bifulco A. Linking lack of care in childhood to anxiety disorders in emerging adulthood: the role of attachment styles. *Child Adolesc Mental Health*. 2015;20:41–8. <https://doi.org/10.1111/camh.12051>.
- Kaufman J. Nature, nurture, and the development and prevention of antisocial behavior problems in children. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*. 2010;49:300–1.
- UNICEF, World Bank, World Health Organization. Nurturing care for early childhood development a framework for helping children survive and thrive to transform health and human potential. Geneva: World Health Organization; 2018. [https://www.who.int/maternal\\_child\\_adolescent/documents/nurturing-care-early-childhood-development/en](https://www.who.int/maternal_child_adolescent/documents/nurturing-care-early-childhood-development/en). Accessed 13 Apr 2019.
- Altafim ERP, Linhares MBM. Preventive intervention for strengthening effective parenting practices: a randomized controlled trial. *J Appl Dev Psychol*. 2019;62:160–72. <https://doi.org/10.1016/j.appdev.2019.03.003>.
- Vlahovicova K, Melendez-Torres GJ, Leijten P, Knerr W, Gardner F. Parenting programs for the prevention of child physical abuse recurrence: a systematic review and meta-analysis. *Clin Child Fam Psychol Rev*. 2017;20: 351–65. <https://doi.org/10.1007/s10567-017-0232-7>.
- Wright B, Edginton E. Evidence-Based Parenting Interventions to Promote Secure Attachment: Findings From a Systematic Review and Meta-Analysis. *Global Pediatr Health*. 2016;3(1):14. <https://doi.org/10.1177/2333794X16661888>.
- Nurse-family Partnership: Helping First Time Parents Succeed. [www.nursefamilypartnership.org](http://www.nursefamilypartnership.org).
- Olds DL, Kitzman H, Cole R, Robinson J, Sidora K, Luckey DW, et al. Effects of nurse home-visiting on maternal life course and child development: age 6 follow-up results of a randomized trial. *PEDIATRICS*. 2004;114:1550–9. <https://doi.org/10.1542/peds.2004-0962>.
- Olds D, Henderson CR, Cole R, Eckenrode J, Kitzman H, Luckey D, et al. Long-term effects of nurse home visitation on children's criminal and antisocial behavior: 15-year follow-up of a randomized controlled trial. *JAMA*. 1998;280:1238–44.
- Olds DL. The nurse-family partnership: an evidence-based preventive intervention. *Infant Ment Health J*. 2006;27:5–25. <https://doi.org/10.1002/imhj.20077>.
- Olds DL, Kitzman H, Knudtson MD, Anson E, Smith JA, Cole R. Effect of home visiting by nurses on maternal and child mortality: results of a 2-decade follow-up of a randomized clinical trial. *JAMA Pediatr*. 2014;168:800. <https://doi.org/10.1001/jamapediatrics.2014.472>.
- Slopen N, McLaughlin KA, Shonkoff JP. Interventions to improve cortisol regulation in children: a systematic review. *Pediatrics*. 2014;133:312–26. <https://doi.org/10.1542/peds.2013-1632>.
- Gunnar M, Quevedo K. The neurobiology of stress and development. *Annu Rev Psychol*. 2007;58:145–73. <https://doi.org/10.1146/annurev.psych.58.110405.085605>.
- Fries E, Dettenborn L, Kirschbaum C. The cortisol awakening response (CAR): facts and future directions. *Int J Psychophysiol*. 2009;72:67–73. <https://doi.org/10.1016/j.jpsycho.2008.03.014>.
- Gunnar MR, Reid BM. Early deprivation revisited: contemporary studies of the impact on young children of institutional care. *Ann Rev Dev Psychol*. 2019;9:93–118.
- Naldi L, Chatenoud L, Linder D, Belloni Fortina A, Peserico A, Virgili AR, et al. Cigarette smoking, body mass index, and stressful life events as risk factors for psoriasis: results from an Italian case-control study. *J Invest Dermatol*. 2005;125:61–7. <https://doi.org/10.1111/j.0022-202X.2005.23681.x>.
- Inoue N. Stress and atherosclerotic cardiovascular disease. *J Atheroscler Thromb*. 2014;21:391–401.

19. Dedovic K, Ngiam J. The cortisol awakening response and major depression: examining the evidence. *Neuropsychiatric Dis Treatment*. 2015;11:1181. <https://doi.org/10.2147/NDT.S62289>.
20. Sinha R, Jastreboff AM. Stress as a common risk factor for obesity and addiction. *Biol Psychiatry*. 2013;73:827–35. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2013.01.032>.
21. Bugental DB, Schwartz A, Lynch C. Effects of an early family intervention on Children's memory: the mediating effects of cortisol levels. *Mind Brain Educ*. 2010;4:159–70. <https://doi.org/10.1111/j.1751-228X.2010.01095.x>.
22. Dozier M, Peloso E, Lindhiem O, Gordon MK, Manni M, Sepulveda S, et al. Developing evidence-based interventions for Foster children: an example of a randomized clinical trial with infants and toddlers. *J Soc Issues*. 2006;62:767–85. <https://doi.org/10.1111/j.1540-4560.2006.00486.x>.
23. Hackman DA, O'Brien JR, Zalewski M. Enduring association between parenting and cortisol: a meta-analysis. *Child Dev*. 2018;89:1485–503. <https://doi.org/10.1111/cdev.13077>.
24. Jadad AR, Moore RA, Carroll D, Jenkinson C, Reynolds DJ, Gavaghan DJ, et al. Assessing the quality of reports of randomized clinical trials: is blinding necessary? *Control Clin Trials*. 1996;17:1–12.
25. National Institute for Health Research (NHS). PROSPERO: International prospective register of systematic reviews. <https://www.crd.york.ac.uk/prosperto/>.
26. Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG, The PRISMA group. Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses: The PRISMA Statement. *PLoS Med*. 2009;6:e1000097. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1000097>.
27. Sterne J, Egger M, Moher, Cochrane Bias Methods Group. Recommendations on testing for funnel plot asymmetry. In: *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions*. Version 5.1.0. 2011. [www.handbook.cochrane.org](http://www.handbook.cochrane.org).
28. Toth SL, Sturge-Apple ML, Rogosch FA, Cicchetti D. Mechanisms of change: testing how preventative interventions impact psychological and physiological stress functioning in mothers in neglectful families. *Dev Psychopathol*. 2015;27:1661–74. <https://doi.org/10.1017/S0954579415001017>.
29. Bakermans-Kranenburg MJ, Van IJzendoorn MH, Mesman J, Alink LRA, Juffer F. Effects of an attachment-based intervention on daily cortisol moderated by dopamine receptor D4: a randomized control trial on 1- to 3-year-olds screened for externalizing behavior. *Dev Psychopathol*. 2008;20. <https://doi.org/10.1017/S0954579408000382>.
30. Berlin LJ, Martoccio TL, Bryce CI, Jones HB. Improving infants' stress-induced cortisol regulation through attachment-based intervention: a randomized controlled trial. *Psychoneuroendocrinology*. 2019;103:225–32. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2019.01.005>.
31. Bernard K, Dozier M, Bick J, Gordon MK. Intervening to enhance cortisol regulation among children at risk for neglect: results of a randomized clinical trial. *Dev Psychopathol*. 2015;27:829–41. <https://doi.org/10.1017/S095457941400073X>.
32. Bernard K, Zwerling J, Dozier M. Effects of early adversity on young children's diurnal cortisol rhythms and externalizing behavior. *Dev Psychobiol*. 2015;57:935–47. <https://doi.org/10.1002/dev.21324>.
33. Bernard K, Hostinar CE, Dozier M. Intervention effects on diurnal cortisol rhythms of child protective services-referred infants in early childhood: preschool follow-up results of a randomized clinical trial. *JAMA Pediatr*. 2015;169:112. <https://doi.org/10.1001/jamapediatrics.2014.2369>.
34. Borghini A, Habersaat S, Pierrehumbert B, Forcada-Guex M, Ansermet F, Muller Nix C. Intervention précoce en Guidance Interactive et modification de la réactivité neuroendocrinienne chez l'ancien grand prématuré âgé de 12 mois et sa mère. *Cahiers critiques de thérapie familiale et de pratiques de réseaux*. 2009;n;43:117. doi:<https://doi.org/10.3917/ctf.043.0117>.
35. Brotman LM, Gouley KK, Huang K-Y, Kamboukos D, Fratto C, Pine DS. Effects of a psychosocial family-based preventive intervention on cortisol response to a social challenge in preschoolers at high risk for antisocial behavior. *Arch Gen Psychiatry*. 2007;64:1172. <https://doi.org/10.1001/archpsyc.64.10.1172>.
36. Cicchetti D, Rogosch FA, Toth SL, Sturge-Apple ML. Normalizing the development of cortisol regulation in maltreated infants through preventive interventions. *Dev Psychopathol*. 2011;23:789–800. <https://doi.org/10.1017/S0954579411000307>.
37. DePasquale CE, Raby KL, Hoyer J, Dozier M. Parenting predicts strange situation cortisol reactivity among children adopted internationally. *Psychoneuroendocrinology*. 2018;89:86–91.
38. Dozier M, Peloso E, Lewis E, Laurenceau J-P, Levine S. Effects of an attachment-based intervention on the cortisol production of infants and toddlers in foster care. *Dev Psychopathol*. 2008;20. <https://doi.org/10.1017/S0954579408000400>.
39. Fisher PA, Stoolmiller M, Gunnar MR, Burraston BO. Effects of a therapeutic intervention for foster preschoolers on diurnal cortisol activity. *Psychoneuroendocrinology*. 2007;32:892–905. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2007.06.008>.
40. Fisher PA, Stoolmiller M. Intervention effects on foster parent stress: associations with child cortisol levels. *Dev Psychopathol*. 2008;20. <https://doi.org/10.1017/S0954579408000473>.
41. Habersaat S, Pierrehumbert B, Forcada-Guex M, Nessi J, Ansermet F, Müller-Nix C, et al. Early stress exposure and later cortisol regulation: impact of early intervention on mother–infant relationship in preterm infants. *Psychol Trauma Theory Res Pract Policy*. 2014;6:457–64. <https://doi.org/10.1037/a0033878>.
42. Letourneau N, Stewart M, Dennis C-L, Hegadoren K, Duffett-Leger L, Watson B. Effect of home-based peer support on maternal-infant interactions among women with postpartum depression: a randomized, controlled trial: postpartum depression home-based support. *Int J Ment Health Nurs*. 2011;20:345–57. <https://doi.org/10.1111/j.1447-0349.2010.00736.x>.
43. Luecken LJ, Hagan MJ, Sandler IN, Tein J-Y, Ayers TS, Wolchik SA. Cortisol levels six-years after participation in the family bereavement program. *Psychoneuroendocrinology*. 2010;35:785–9. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2009.11.002>.
44. Luecken LJ, Hagan MJ, Sandler IN, Tein J-Y, Ayers TS, Wolchik SA. Longitudinal mediators of a randomized prevention program effect on cortisol for youth from parentally bereaved families. *Prev Sci*. 2014;15:224–32. <https://doi.org/10.1007/s1121-013-0385-7>.
45. Luecken LJ, Hagan MJ, Mahler NE, Wolchik SA, Sandler IN, Tein J-Y. Effects of a prevention program for divorced families on youth cortisol reactivity 15 years later. *Psychol Health*. 2015;30:751–69. <https://doi.org/10.1080/08870446.2014.983924>.
46. Nelson EM, Spieker SJ. Intervention effects on morning and stimulated cortisol responses among toddlers in foster care. *Infant Ment Health J*. 2013;34:211–21.
47. O'Neal CR, Brotman LM, Huang K-Y, Gouley KK, Kamboukos D, Calzada EJ, et al. Understanding relations among early family environment, cortisol response, and child aggression via a prevention experiment. *Child Dev*. 2010;81:290–305. <https://doi.org/10.1111/j.1467-8624.2009.01395.x>.
48. Pirnia B, Pirnia K, Ershad Sarabi R, Malekanmehr P, Soltani L, Zahiruddin A, et al. A double-blind randomized controlled trial in effectiveness of parent-child interaction therapy on psychological Indicator and cortisol level in children of caregiver with Cancer. *Int J Cancer Manag*. 2019;12. <https://doi.org/10.5812/ijcm.85572>.
49. Pöhlmann-Tynan J, Engbretson A, Vigna AB, Weymouth LA, Burnson C, Zahn-Waxler C, et al. Cognitively-based compassion training for parents reduces cortisol in infants and young children. *Infant Ment Health J*. 2020;41:126–44. <https://doi.org/10.1002/imhj.21831>.
50. Prats L, Soledad Segretin M, Fracchia C, Kamienskowski J, Pietto M, Hermida J, et al. Associations between individual and contextual factors with cognitive performance in preschoolers from unsatisfied basic needs (UBN) homes. *Cuadernos De Neuropsicología-Panamericana J Neuropsychol*. 2017;11:19–54.
51. Turpin CC, Chaplin TM, Fischer S, Thompson JC, Fedota JR, Baer RA, et al. Affective neural mechanisms of a parenting-focused mindfulness intervention. *Mindfulness*. 2019. <https://doi.org/10.1007/s12671-019-01118-6>.
52. Andel HV, Post W, Jansen L, der Gaag RIV, Knorth A, Grietens H. Optimizing foster family placement for infants and toddlers: A randomized controlled trial on the effect of the foster family intervention. *Am J Orthopsychiatr*. 2016;86:332–44. <https://doi.org/10.1037/ort0000162>.
53. Bugental DB, Ellerson PC, Lin EK, Rainey B, Kokotovic A, O'Hara N. A cognitive approach to child abuse prevention. *J Fam Psychol*. 2002;16:243–58. <https://doi.org/10.1037/0893-3200.16.3.243>.
54. Bagner DM, Sheinkopf SJ, Vohr BR, Lester BM. Parenting intervention for externalizing behavior problems in children born premature: an initial examination. *J Dev Behav Pediatr*. 2010;31:209–16. <https://doi.org/10.1097/DBP.0b013e3181d5a294>.
55. Landsem IP, Handegård BH, Tunby J, et al. Early intervention program reduces stress in parents of preterms during childhood, a randomized controlled trial. *Trials*. 2014;15:387. <https://doi.org/10.1186/1745-6215-15-387>.



56. Price JM, Roesch S, Walsh NE, Landsverk J. Effects of the KEEP Foster parent intervention on child and sibling behavior problems and parental stress during a randomized implementation trial. *Prev Sci*. 2015;16(5):685–95. <https://doi.org/10.1007/s11121-014-0532-9>.
57. Gardner F, Hutchings J, Bywater T, Whitaker C. Who benefits and how does it work? Moderators and mediators of outcome in an effectiveness trial of a parenting intervention. *J Clin Child Adolesc Psychol*. 2010;39:568–80. <https://doi.org/10.1080/15374416.2010.486315>.
58. Hagen KA, Ogden T, Bjørnebekk G. Treatment outcomes and mediators of parent management training: a one-year follow-up of children with conduct problems. *J Clin Child Adolesc Psychol*. 2011;40:165–78. <https://doi.org/10.1080/15374416.2011.546050>.
59. Newson M, Shiramizu V, Buhrmester M, Hattori W, Jong J, Yamamoto E, et al. Devoted fans release more cortisol when watching live soccer matches. *Stress Health*. 2020:2924. <https://doi.org/10.1002/smi.2924>.
60. Ahnert L, Gunnar MR, Lamb ME, Barthel M. Transition to child care: associations with infant-mother attachment, infant negative emotion, and cortisol elevations. *Child Dev*. 2004;75:639–50. <https://doi.org/10.1111/j.1467-8624.2004.00698.x>.
61. Russell E, Koren G, Rieder M, Van Uum S. Hair cortisol as a biological marker of chronic stress: current status, future directions and unanswered questions. *Psychoneuroendocrinology*. 2012;37:589–601. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2011.09.009>.
62. Wright KD, Hickman R, Laudenslager ML. Hair cortisol analysis: a promising biomarker of HPA activation in older adults: figure 1. *The Gerontologist*. 2015;55(Suppl 1):S140–5. <https://doi.org/10.1093/geront/gnu174>.
63. Kaarensen PI, Ronning JA, Ulvund SE, Dahl LB. A randomized, controlled trial of the effectiveness of an early-intervention program in reducing parenting stress after preterm birth. *Pediatrics*. 2006;118:e9–19. <https://doi.org/10.1542/peds.2005-1491>.
64. Westrupp E, Northam E, Lee K, Scratch S, Cameron F. Reducing and preventing internalizing and externalizing behavior problems in children with type 1 diabetes: a randomized controlled trial of the triple P-positive parenting program: triple P for children with type 1 diabetes. *Pediatr Diabetes*. 2015;16:554–63. <https://doi.org/10.1111/pedi.12205>.
65. Mouton B, Loop L, Stievenart M, Roskam I. Parenting programs to reduce young Children's externalizing behavior: a meta-analytic review of their behavioral or cognitive orientation. *Child Fam Behav Ther*. 2018;40:115–47. <https://doi.org/10.1080/07317107.2018.1477348>.
66. Hiscock H, Cook F, Bayer J, Le HN, Mensah F, Cann W, et al. Preventing early infant sleep and crying problems and postnatal depression: a randomized trial. *Pediatrics*. 2014;133:e346–54. <https://doi.org/10.1542/peds.2013-1886>.
67. Cabral de Mello M. Responsive parenting: interventions and outcomes. *Bull World Health Organization*. 2006;84:991–8. <https://doi.org/10.2471/BLT.06.030163>.
68. Fabrizio CS, Lam TH, Hirschmann MR, Stewart SM. A brief parenting intervention to enhance the parent-child relationship in Hong Kong: harmony@home. *J Child Fam Stud*. 2013;22:603–13. <https://doi.org/10.1007/s10826-012-9614-0>.
69. Rutter M. Achievements and challenges in the biology of environmental effects. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012;109(suppl.2):17149–53.

## Publisher's Note

Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

**Ready to submit your research? Choose BMC and benefit from:**

- fast, convenient online submission
- thorough peer review by experienced researchers in your field
- rapid publication on acceptance
- support for research data, including large and complex data types
- gold Open Access which fosters wider collaboration and increased citations
- maximum visibility for your research: over 100M website views per year

**At BMC, research is always in progress.**

Learn more [biomedcentral.com/submissions](https://biomedcentral.com/submissions)



## ARTIGO ORIGINAL 1

---

A ser submetido à revista “*Psychoneuroendocrinology*”

**Determinants of chronic cortisol in children and their mothers: results from a  
Brazilian birth cohort**

Rafaela Costa Martins<sup>1,2a</sup>, Luciana Tovo-Rodrigues<sup>1,2</sup>, Isabel Oliveira<sup>2</sup>, Andrea Dâmaso Bertoldi<sup>2</sup>, Fernando Barros<sup>2</sup>, Mariângela Silveira<sup>2</sup>, Marlos Rodrigues Domingues<sup>2</sup>, Andrea Gonzalez<sup>3</sup>, Joseph Murray<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Human Development and Violence Research Centre (DOVE), Federal University of Pelotas;

<sup>2</sup>Federal University of Pelotas, Post Graduate Program of Epidemiology, Pelotas, Brazil;

<sup>3</sup>Department of Psychiatry & Behavioural Neurosciences, McMaster University, Hamilton, Canada.

<sup>a</sup>Corresponding author:

Email address: [rafamartins1@gmail.com](mailto:rafamartins1@gmail.com)

Institutional address: Marechal Deodoro, 1160 - 3rd floor. Centro - Pelotas, RS. Zipcode:

96020-220

Phone/fax +55 (53) 3284 – 1300.

Declaration of interest: None

Funding: This work was supported by The Wellcome Trust (Investigator Award to JM - 210735\_Z\_18\_Z), and the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) – Finance Code 001.

## Abstract

**Objective:** To investigate levels and determinants of hair cortisol levels in children and their mothers, in a population-based sample in a Brazilian city with varying socioeconomic conditions.

**Methods:** We used data from the 4-year follow-up of the 2015 Pelotas (Brazil) Birth Cohort Study. The cohort sample size at birth was 4,275, and at 4 years, 4,010 participants were assessed. Hair samples were collected by trained fieldworkers to analyze average levels of cortisol over a 3-month period. Four groups of variables were tested as determinants: socioeconomic (sex, age, skin color, family income, education, overcrowded houses, daycare enrollment, pregnancy), substance exposure (illicit drug use, smoking, oral contraceptive use and corticosteroid use), perceived stress, and hair related (natural color, treatment, type, frequency of wash, last wash and last cut). Linear regression with log transformation was performed to test differences of hair cortisol in each category of exposures.

**Results:** 3,252 children and 3,129 mothers were analyzed (81.1% and 78.0% of those followed at age 4, respectively), for whom sufficient hair was collected for cortisol analysis. The average (median) level of hair cortisol concentration for children was 7.8 pg/mg (IQR = 5.6 – 11.0). For the mothers, the median of hair cortisol concentration was 5.6 pg/mg (IQR = 4.2 – 7.8). Child cortisol was associated with level of maternal schooling (lower education associated with higher levels of child cortisol). For mothers, higher hair cortisol levels were associated with lower age (<20 years old), lower education, pregnancy, corticosteroid use in the last 3 months, natural hair color (black hair had higher levels of cortisol compared with brown hair). Also, lower hair cortisol levels were associated with black skin color, blond hair (compared with brown hair natural color), washing the hair on the same day of the interview, and those who never had a haircut.

**Conclusion:** This is the largest study of chronic stress using hair cortisol measures worldwide to date. The main predictor of hair cortisol for children was level of maternal schooling, and among mothers, their own education and hair characteristics.

**Keywords:** Hair cortisol, chronic stress, cohort study, Brazil

## 1. Introduction

The human body is a complex system that needs to maintain homeostasis to survive. This is often inhibited by stressors and the organism has to adapt to reestablish the normal balance.

(1) Whenever the human body cannot adapt due to several stress stimuli, physiological mechanisms start in the brain – using more resources than usual – damaging individual's health. (1) Considering the great extent of the negative impact in human's health, a great attention in public health should be given to this theme. For instance, stress is associated with the development of several diseases, such as cardiovascular, mental, skin problems and obesity. (2–4) Besides, the stress is known as a risk factor for some negative behaviors as alcohol use and smoking. (4)

All situations perceived as stressors activate the same mechanisms in the human body, known as the HPA (hypothalamic-pituitary-adrenal) axis. (5) The HPA axis starts releasing the corticotropin hormone (CRH) in the hypothalamus whenever the organism feels threatened by stressors. Then, the CRH signals the pituitary gland to secrete the adrenocorticotrophic hormone (ACTH) into the bloodstream, leading the ACTH to the cortex of the adrenal glands, where cortisol is now synthesized and released in order to maintain the appropriate amount of cortisol circulating. At this point, the human body is completely vigilant and ready to deal with stress. The goal of this system is to restore and maintain the homeostasis, which is essential for body's proper functioning. (1)

Although these biological reactions to short-term stressors are adaptive for responding to stress, when stress is recurrent, biological stress systems may be chronically activated, leading to dysregulation of the HPA axis, damaging the brain and other organs and altering cortisol secretion quantity. (6) Most studies of cortisol and stress have used saliva samples, but this method only estimates acute levels of cortisol (short and specific periods of time). (7–9) A new technique that has been used over the past few years to identify levels of chronic stress is the collection of hair cortisol, which is a non-invasive biomarker and indicates longer

term levels of cortisol in the body. (10) As the average length of hair growth in the population is about 1cm per month, and researchers usually collect 3cm of each participant's hair segment closest to the scalp to estimate average cortisol levels during the previous 3 months. (11)

Knowledge about *chronic* cortisol measured by hair samples is still limited, and although a number of studies have been conducted, findings are still unclear regarding relevant confounders that should be considered (such as hair characteristics) as well as key environmental drivers of cortisol measured in hair samples. (12–17) Many existing studies have analyzed small samples and are not population-based, making it unclear what population norms are or which correlates are robust. (15) Two reviews, one evaluating individuals in several ages (17) and other in children (14), compiled data of some determinants of hair cortisol. However, there is still inconsistency about some determinants in the literature.

The overwhelming majority of studies on this topic have been conducted in high income countries, while 84% of the global population live in low- and middle-income countries, including many of the world's communities most vulnerable to stress. (17) Given the lack of studies of chronic cortisol in the global south, and the lack of large population-studies worldwide, the aim of this study was to investigate hair cortisol levels in pre-school children and their mothers, and to investigate the socioeconomic, substance use, hair- and stress-related determinants of hair cortisol in a representative sample in a Brazilian city with varying socioeconomic conditions.

## 2. Methods

We used data from the 2015 Pelotas (Brazil) Birth Cohort Study, which followed all children born alive in the city of Pelotas in 2015, and some of these children were followed since their mothers' pregnancy. Follow-up assessments were conducted at: first trimester, second trimester and third trimester of pregnancy, at birth, 3 months of age, 1 year, 2 years and 4 years. The cohort sample size at birth was 4,275. More details regarding the cohort methods and sample sizes are described elsewhere. (18) At 4 years, 4,010 participants were followed and 67 participants were identified as having deceased (in total, 95.3% of the original cohort; mean age and standard deviation =  $3.8 \pm 0.2$  years). Caregivers bringing the child for assessment at this time were 93.3% biological mothers, 3.0% biological father, 2.2% grandmother, 0.7% adoptive mother, 0.9% other person; nevertheless, for this paper we analyzed only data of biologic mothers. At every assessment the project was submitted to the Research Ethics Committee of the Federal University of Pelotas (School of Physical Education or Medical School) and received their approval. Participant's mothers provided a written informed consent at each study follow-up. For the 4 years follow-up, there was two protocol numbers (one for psychological and biological measurements and the other for all other measures) from the approved project: 26746414.5.0000.531 and 03837318.6.0000.5317.

To obtain hair for cortisol analysis from children and their mothers, a trained fieldworker followed detailed hair-cutting instructions: a) sanitize the scissors, b) if the hair was wet or damp, dry the hair; c) identify the posterior vertex of the head and tie around 100 hair strands with a string (for those individuals that did not have sufficient hair in the vertex of the head, we distributed the cut in several mini samples over the head); d) place the scissors as near as possible to the scalp, and cut the hair. After this, the fieldworker stored the hair sample inside a Bristol board with identification of the hair end that came closest to the scalp, and these materials were sealed inside a Ziploc bag. Whenever the hair was too short, the instruction

was to collect the hair from the tuft – if possible – or from several parts of the head until reach the right amount of hair strands were obtained.

After hair was collected, it was taken to the laboratory of the University Centre for Epidemiological Research, where a standardized protocol was used for hair washing, grinding, hormone extraction and cortisol quantification. First, the 3 centimeters of hair closest to the scalp was cut and placed into a Falcon 50 mL Conical Centrifuge Tube. Those hair samples were washed with 12 mL of isopropanol and shaken by hand for 2 minutes, followed by isopropanol discarded - this procedure was performed twice. When completely dry, the samples were grinded using the Retsch NM400. Around 35 mg of ground hair powder plus 1ml of ethanol absolute was shaken for 48h in the Shaker Horbit LS Labnet and then vortexed. Then, the sample was rotated at 12.000 rpm on the centrifuge (Sigma), dropping the ethanol for a new tube. Another 1ml of ethanol absolute was filled in the original tube and, after more 48h of shaking and vortexing, the ethanol absolute was pipetted for the tube containing ethanol. Those tubes were kept drying for 5 days, until completely dry. Samples were then assayed in duplicate by ELISA using the High Sensitivity Salivary Cortisol Immunoassay Kit (Cat# 1-3002, Salimetrics, Pennsylvania), as per the manufacturer's instructions. Cortisol levels are expressed in pg/mg by the Spectramax 190. Intra- and interassay coefficients of variance were below 10% in the present study.

We analyzed levels of child and maternal cortisol in relation to sociodemographic factors of the participants, substance use, perceived stress and several hair characteristics that could influence hair cortisol levels. All potential correlates of cortisol were measured by mother's report at the 4-year assessment. In relation to hair characteristics, these are considered potentially important correlates to include in multivariate models when examining determinants of cortisol measured from hair samples. Hair characteristics, such as hair treatment, or hair washing, are factors that may influence *hair cortisol*, but not cortisol throughout the body. Hence hair samples as a biomarker of levels of cortisol in the organism, need to be analyzed



adjusting for such confounders when examining other potential determinants, such as socioeconomic conditions.

For children, we analyzed sex (male/female), maternal skin color (white, black, brown or other), family income ( $\leq 1$ , 1.1 – 3.0, 3.1 – 6.0, 6.1 – 10.0 or  $>10$  minimum wages), level of maternal schooling when the child was 4 years old (0 to 4 years, 5 to 8 years, 9 to 11 years, 12 or more years of study), overcrowded housing (no if  $\leq 3$  or yes if  $>3$  individuals per bedroom), if the child goes to a nursery/school (no, public or private), passive smoking (yes or no), corticosteroid use in the last 3 months (yes or no), natural hair color (brown, black, blond, grey or red), if the child did any hair treatment in the last 3 months (yes or no), type of the hair (straight, wavy, curly, kinky), times per week of hair wash (less than 2 times, 2 to 5 times, 5 to 7 times or more than 8 times per week), day of last wash in comparison with the day of hair collection (same day, one day before, 2 or more days before), last hair cut (in the last 30 days, between 1 and 2 months ago, between 2 and 3 months ago, more than 3 months ago or never). For mothers, we analyzed the same exposures mentioned above for children, but excluded sex, if the child goes to a nursery/school, and passive smoking – the level of maternal schooling was replaced by education level and maternal skin color was replaced by skin color. However, we included age ( $<20$  years, 20 to 34 years and 35 or more years), if the mother was pregnant at the moment (yes or no), smoking (yes, no or ex-smoker), illicit drug use in the last 3 months (yes or no), oral contraceptive use (yes or no), and perceived stress (low stress, moderate stress, high stress).

Fifteen children and seven mothers for whom hair cortisol concentration (HCC) were higher than  $\pm 4$  standard deviations from the mean were considered outliers and excluded from analyses. As HCC was not normally distributed for either children or mothers, descriptive statistics are presented as medians and interquartile ranges, and comparisons of exposure categories (e.g. male-female children) were conducted using the command *median*. For multivariate analysis, the HCC was log-transformed. We used linear regression to estimate

adjusted coefficients. For ease of interpretation, the resulting estimates were then untransformed, and the geometric mean is presented in the Results. In the adjusted analyses, the variables were inserted into the model using backwards selection, excluding those variables with  $p < 0.20$ . First level in the model included hair related variables (natural hair color, hair treatment, type of hair, frequency of hair wash, day of last hair wash and last haircut); second level included socioeconomic variables (sex, age, skin color, family income, level of schooling, overcrowded housing, if the child goes to school/nursery, if the mother is currently pregnant); third level included perceived stress variable; forth level included substance use variables (smoking, illicit drug use, corticosteroid use, oral contraceptive use). Significance level was set at 5%. All analyses were conducted in the statistical software Stata 15.1.

### 3. Results

Of the 4,010 dyads interviewed in the 48-years follow-up, the hair cortisol sample analyzed was 3,252 children and 3,129 mothers, based on the individuals for whom sufficient hair could be collected for cortisol analysis. Tables 1 and 2 show the characteristics of the sample of children and their mothers. The mean age of children and their mothers, respectively, was 3.8 (SD= 0.2) and 31.4 years (SD= 6.6). Just over a quarter of mothers had very low (0-8 years) levels of education, 17% of the children lived in overcrowded housing, most (60%) children were not in daycare, and around 25% of children had used corticosteroid medicines in the last 3 months. The average (median) level of hair cortisol concentration for children was 7.8 pg/mg (IQR = 5.6 – 11.0). For the mothers, the median of hair cortisol concentration was 5.6 pg/mg (IQR = 4.2 – 7.8). According to Figure 1A and 1B, HCC was not normally distributed, with a long tail to the right; ranges were from 0.1 to 157.1 pg/mg for children and 0.2 to 60.4 pg/mg for mothers.

In crude descriptive analyses of child cortisol (Table 1), higher levels were observed for children with less schooled mothers, those not living in an overcrowded house, and those that did not smoked passively. Children were approximately the same age, and there was no variation in cortisol levels according to child age. For adults (Table 2), mothers with 9 to 11 years of education, pregnant, with grey hair, those who treated the hair in the last 3 months had higher levels of hair cortisol. Yet, blond individuals, those who washed their hair at the same day of the interview, and those that never had a haircut showed lower levels of hair cortisol.

In the adjusted model (Table 3), child cortisol was associated only with level of maternal schooling (lower education associated with higher levels of child cortisol). For mothers, higher hair cortisol levels were associated with lower age (<20 years old), lower education, pregnant women, corticosteroid use in the last 3 months, black hair color compared with brown hair natural color). Also, lower hair cortisol levels were associated with black skin color, blond hair

(compared with brown hair natural color), washing the hair on the same day of the interview, and those who never had a haircut.

#### **4. Discussion**

Chronic stress can have long-lasting effects on health and well-being, since prolonged activation of the HPA axis can impact on dysregulation of immune, metabolic or cardiovascular systems. (19,20) Chronic stress occurs in the context of neglect, persistent violence or extreme poverty, and other adverse environments, and can alter brain architecture. Early childhood is a period of particular vulnerability to chronic stress, given the speed of brain development and creation of new biological circuits. Evidence suggests children suffering from chronic stress have modified capacity to adapt to stress in later life. (21) However, chronic stress is a challenge for individuals of all ages, and can increase the risk of headache, hypertension, stroke, heart attack, depression, immune disorders, chronic fatigue, metabolic disorders, decrease libido and sperm production and maturation. (22) A major difficulty for research has been to measure chronic stress (over a period of months) effectively in large surveys.

Hair cortisol is a relatively new biomarker of chronic stress, with a key advantage over other cortisol measures (e.g., saliva, urine or blood) which reflect acute stress and are influenced by many concurrent factors, such as circadian rhythm, exercise or recent substance use. (17) Hair samples offer a measure of average levels of cortisol over the past few months, but few large, population-based studies have used this method. The current analysis of hair cortisol levels in over three thousand children and their mothers. To our knowledge, this is the largest study in the world of chronic stress measured by hair.

As a relatively new biomarker, it is important to investigate which variables are relevant to hair cortisol levels. Systematic reviews and meta-analyses pooled information from prior studies, but findings are mixed or inconclusive. (14,17) Stalder and colleagues (2017) (17) meta-analyzed 72 studies of hair cortisol in samples of all ages and found that sex, age, hair washing frequency, hair treatment and contraceptive use were associated with hair cortisol. Gray et al. (2018) (14) reviewed 36 studies of children and observed that higher hair cortisol

concentration was associated with male sex, higher BMI and waist circumference, lower income and lower maternal education.

Regarding hair cortisol median values, the evidence still has different results according to different ages. While our results presented median values of 7.8 pg/mg for children and 5.6 pg/mg for adult women, the literature has a huge range of values. For example, children (1 to 9 years) can present medians from 1.3 pg/mg to 681.9 pg/mg. (23–29) For adolescents (10 to 16 years), medians can range from 1.3 pg/mg to 3.7 pg/mg. (30–33) For adults, this range can be from 5.6 pg/mg to 186.9 pg/mg. (13,34–36) Those results confirm that studies need to prioritize methodological issues to assure comparability, and also more projects stating population values of hair cortisol is needed.

In theory, poverty and social vulnerability are associated with higher levels of chronic stress, and as such, higher levels of cortisol in hair. However, children exposed to severe deprivation, neglect or abuse usually present lower levels of basal cortisol, measured with saliva or urine. (37) Although family income was not associated with child/mother cortisol in the current study, the most important correlate, regardless of age, was level of maternal schooling (lower education was associated with higher levels of hair cortisol concentration for both children and their mothers). Previous studies testing the association between hair cortisol and education were mixed. (38–40) One hypothesis for the association between level of maternal schooling and child cortisol, is that higher level of maternal schooling is associated with less harsh parenting, and as a consequence, less persistent activation of the HPA axis. (39)

We found no difference between boys and girls hair cortisol concentration. A systematic review conducted with children had concluded that boys had higher hair cortisol levels than girls, (14) and some individual studies of adults also found that males have higher hair cortisol concentration than females. (16,41,42) However, a study conducted with adolescents aged 10-12 years old in China found higher levels in girls. (43) The main explanation for this disagreement is probably age differences between samples, since the glucocorticoid secretion

differs by sex (44) and HPA regulation changes during puberty for males and females. (43) For example, estrogen is a hormone protects against repeated stress. Also, this hormone is lower in girls that are not in puberty yet, enabling stress levels to be higher at early childhood. (45,46)

Although not significant results in children, after adjusted analysis, the lowest cortisol levels were found in individuals with black skin color. These results goes against what was expected, once individuals with black skin color in Brazil live in an overcrowded house with worse sanitation conditions, are poorer, their income per capita are lower, and they are more victims of violence. (47–49) As stressors can dysregulate the HPA axis in the organism, (6,50) we believe that what may have occurred is that black individuals are more resilient, due to persistent prejudice since early childhood, and down regulated their cortisol levels. However, it is still unknown if a burden of adversities increases or decreases chronic cortisol levels measured by hair samples as time goes by.

It has been hypothesised in the literature that use of substances, such as tobacco, drugs and other medicines, are associate with chronic cortisol. However, the majority of the studies in the literature did not found association of hair cortisol and use of substances. (13,41,42,51) For example, Dettenborn and colleagues (2012) evaluated overall medication intake, contraceptive use and smoking in participants with more than 18 years and no significant association was found. Despite the small sample size, another study with participants aged 16 or older from London tested the association of hair cortisol and several categories of medicines, plus smoking and alcohol use. Only painkillers, antidepressants and contraceptives were significant in their model. (13) Smoking and drug use were not different in our results, where no association was found neither in basic association nor in adjusted model. Regarding medicine use, we found that the use of corticosteroid in the last three months in adults can affect cortisol levels in adjusted analysis.

We examined associations of hair cortisol with several possible hair characteristics as confounders and adjusted for those in testing associations between socioeconomic factors and cortisol. Our findings suggested that three hair characteristics are important to consider in adult studies of cortisol measured from hair samples – natural hair color, last hair wash and last haircut. The meta-analysis of hair cortisol determinants in humans found that hair washing frequency and hair treatment as hair related covariates. (17) On the other hand, the systematic review with children did not find any evidence of association between hair cortisol and hair wash frequency and hair treatment – other hair related variables were not possible to determine its association due to lack of studies. (14)

The key strengths of this study are that it is large, population-based cohort, with a small loss to follow-up. Also, our cohort is diverse in terms of socioeconomic status and health related issues, providing variability to examine in relation to cortisol levels. Few prior studies of hair cortisol levels share similar characteristics. The following limitations should also be considered. Although low, a proportion of participants could not be included in the analyses because of loss to follow-up or failure to obtain sufficient hair (especially boys) for laboratory analysis. For those individuals that did not have sufficient hair in the vertex of the head, we distributed the cut in several mini samples over the head. Although the cohort design is a strength for including prospective data on possible determinants of cortisol from birth onwards, this design also means all children were of the same age, and differences in cortisol by child age could not be tested. Lastly, skin color for children was not measured in any follow-up, unable to be tested as a determinant.

This study allowed us to assess hair cortisol in a large, urban, population-based sample, with wide socioeconomic conditions. The main predictors of hair cortisol among children were level of maternal schooling, and among mothers, their own education, as well as natural hair color, last hair wash, and last haircut. This study provides important norms on levels of cortisol in the population of this setting and variability across levels of parental education. Finally, we



highlight the importance of parental education in child's health, once we reassure the mitigation of cumulative stress in their children.

Figure 1. Distribution of hair cortisol in children (A) and their mothers (B) in the 2015 Pelotas (Brazil) Birth Cohort Study

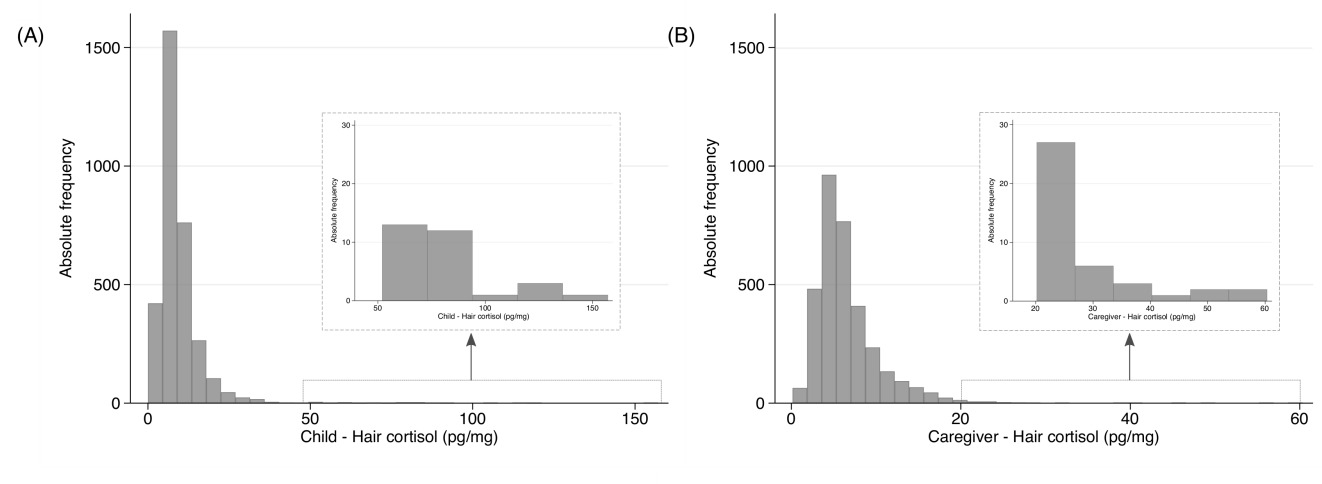


Table 1. Description of child characteristics, their hair cortisol concentration (HCC; expressed in pg/mg) and its determinants in the 2015 Pelotas Birth Cohort

|                                               | N (%)       | Median HCC (IQR) | <i>p</i> |
|-----------------------------------------------|-------------|------------------|----------|
| Child sex                                     |             |                  | 0.054    |
| Male                                          | 1602 (49.3) | 7.6 (5.4 – 11.0) |          |
| Female                                        | 1650 (50.7) | 7.9 (5.8 – 11.0) |          |
| Maternal skin color                           |             |                  | 0.297    |
| White                                         | 2372 (73.0) | 7.8 (5.6 – 11.0) |          |
| Black                                         | 468 (14.4)  | 7.5 (5.4 – 10.8) |          |
| Brown                                         | 397 (12.2)  | 7.9 (5.5 – 11.1) |          |
| Other*                                        | 14 (0.4)    | 6.7 (5.1 – 9.2)  |          |
| Family income (minimum wage)                  |             |                  | 0.192    |
| ≤1.0                                          | 293 (9.1)   | 8.0 (5.6 – 11.0) |          |
| 1.1 – 3.0                                     | 1511 (47.0) | 7.7 (5.6 - 11.1) |          |
| 3.1 – 6.0                                     | 895 (27.8)  | 8.0 (5.6 - 11.2) |          |
| 6.1 – 10.0                                    | 268 (8.3)   | 7.5 (5.4 - 10.7) |          |
| >10.0                                         | 250 (7.8)   | 7.4 (5.5 - 10.7) |          |
| Level of maternal schooling (completed years) |             |                  | 0.001    |
| 0-4                                           | 128 (3.9)   | 8.4 (6.3 - 12.3) |          |
| 5-8                                           | 791 (24.3)  | 7.2 (5.4 - 10.5) |          |
| 9-11                                          | 1166 (35.9) | 8.0 (5.6 - 11.5) |          |
| 12 or more                                    | 1167 (35.9) | 7.8 (5.6 - 10.9) |          |
| Overcrowded housing                           |             |                  | 0.035    |
| No                                            | 3548 (83.0) | 7.8 (5.6 – 11.0) |          |
| Yes                                           | 727 (17.0)  | 7.4 (5.5 – 11.0) |          |
| Goes to nursery/school                        |             |                  | 0.373    |
| No                                            | 2386 (59.5) | 7.8 (5.6 – 11.2) |          |

|                                            |             |                   |       |
|--------------------------------------------|-------------|-------------------|-------|
| Yes, public                                | 789 (19.7)  | 7.7 (5.5 – 10.8)  |       |
| Yes, private                               | 833 (20.8)  | 7.6 (5.5 – 10.7)  |       |
| Passive smoking                            |             |                   | 0.049 |
| No                                         | 2076 (64.4) | 7.9 (5.7 - 11.2)  |       |
| Yes                                        | 1149 (35.6) | 7.7 (5.5 - 10.7)  |       |
| Any corticosteroid use (last 3 months)     |             |                   | 0.619 |
| No                                         | 2406 (74.8) | 7.8 (5.6 - 10.9)  |       |
| Yes                                        | 809 (25.2)  | 8.0 (5.5 - 11.4)  |       |
| Natural hair color                         |             |                   | 0.426 |
| Brown                                      | 2281 (70.6) | 7.8 (5.6 - 11.1)  |       |
| Black                                      | 355 (11)    | 8.1 (5.6 - 11.5)  |       |
| Blond                                      | 571 (17.7)  | 7.5 (5.5 - 10.7)  |       |
| Red                                        | 21 (0.6)    | 6.4 (5.5 - 8.1)   |       |
| Hair treatment (last 3 months)             |             |                   | 0.605 |
| No                                         | 3198 (98.9) | 7.8 (5.6 – 11.0)  |       |
| Yes                                        | 34 (1.1)    | 7.4 (5.7 - 9.6)   |       |
| Hair type                                  |             |                   | 0.773 |
| Straight                                   | 1219 (37.7) | 7.7 (5.6 - 11.3)  |       |
| Wavy                                       | 937 (29.0)  | 7.8 (5.6 - 10.8)  |       |
| Curly                                      | 745 (23.1)  | 8.0 (5.6 – 11.0)  |       |
| Kinky                                      | 330 (10.2)  | 7.7 (5.4 - 10.9)  |       |
| Frequency of hair washing (times per week) |             |                   | 0.085 |
| < 2 times                                  | 181 (5.6)   | 7.3 (5.4 - 9.9)   |       |
| 2 – 5 times                                | 1129 (34.9) | 7.6 (5.5 - 10.8)  |       |
| 5 – 7 times                                | 1911 (59.1) | 7.9 (5.6 - 11.2)  |       |
| ≥ 8 times                                  | 11 (0.3)    | 10.7 (7.1 - 11.5) |       |
| Day of last hair wash                      |             |                   | 0.064 |

|                          |                     |                         |       |
|--------------------------|---------------------|-------------------------|-------|
| Day of interview         | 858 (26.6)          | 7.7 (5.8 - 10.8)        |       |
| 1 day before interview   | 1856 (57.4)         | 8.0 (5.6 - 11.3)        |       |
| 2+ days before interview | 517 (16.0)          | 7.4 (5.3 - 10.5)        |       |
| Last hair cut            |                     |                         | 0.376 |
| <1 month                 | 890 (27.6)          | 7.5 (5.4 - 10.7)        |       |
| 1-2 months               | 599 (18.5)          | 7.8 (5.5 - 11.4)        |       |
| 2-3 months               | 268 (8.3)           | 8.1 (5.5 - 11.5)        |       |
| >3 months                | 569 (17.6)          | 7.9 (5.8 - 11.0)        |       |
| Never                    | 904 (28.0)          | 7.9 (5.7 - 10.9)        |       |
| <b>HCC</b>               | <b>3252 (100.0)</b> | <b>7.8 (5.6 - 11.0)</b> |       |

\*Yellow (n=12); Indigenous (n=5)

Table 2. Description of maternal characteristics, their hair cortisol concentration (HCC; expressed in pg/mg) and its determinants in the 2015 Pelotas Birth Cohort

|                              | N (%)       | Median HCC (IQR) | <i>p</i> |
|------------------------------|-------------|------------------|----------|
| Age (in years)               |             |                  | 0.264    |
| <20                          | 45 (1.4)    | 6.7 (4.8 - 8.1)  |          |
| 20-34                        | 2032 (65.1) | 5.6 (4.1 - 7.6)  |          |
| ≥35                          | 1043 (33.4) | 5.7 (4.1 - 8.1)  |          |
| Skin color                   |             |                  | 0.180    |
| White                        | 2278 (73)   | 5.6 (4.2 - 7.8)  |          |
| Black                        | 447 (14.3)  | 5.3 (4.1 - 7.7)  |          |
| Brown                        | 379 (12.1)  | 5.6 (4 - 7.7)    |          |
| Other*                       | 16 (0.5)    | 6.8 (4 - 7.7)    |          |
| Family income (minimum wage) |             |                  | 0.253    |
| ≤1.0                         | 276 (8.9)   | 5.5 (4.2 - 7.6)  |          |
| 1.1 – 3.0                    | 1455 (47.0) | 5.7 (4.3 - 7.9)  |          |
| 3.1 – 6.0                    | 884 (28.6)  | 5.6 (4.2 - 8.1)  |          |
| 6.1 – 10.0                   | 250 (8.1)   | 5.3 (3.9 – 7.0)  |          |
| >10.0                        | 228 (7.4)   | 5.5 (3.9 - 7.1)  |          |
| Education (completed years)  |             |                  | 0.028    |
| 0-4                          | 105 (3.4)   | 5.7 (4.1 - 8.2)  |          |
| 5-8                          | 751 (24.1)  | 5.5 (4.1 - 7.7)  |          |
| 9-11                         | 1139 (36.5) | 5.9 (4.3 - 8.2)  |          |
| 12 or more                   | 1126 (36.1) | 5.4 (4.0 - 7.4)  |          |
| Overcrowded housing          |             |                  | 0.380    |
| No                           | 2789 (89.4) | 5.6 (4.1 - 7.8)  |          |
| Yes                          | 332 (10.6)  | 5.7 (4.3 - 7.7)  |          |
| Currently pregnant           |             |                  | 0.042    |

|                                        |             |                 |       |
|----------------------------------------|-------------|-----------------|-------|
| No                                     | 2982 (95.7) | 5.6 (4.1 - 7.8) |       |
| Yes                                    | 134 (4.3)   | 6.1 (4.7 - 8.7) |       |
| Currently smokes                       |             |                 | 0.355 |
| No                                     | 2384 (76.8) | 5.6 (4.1 - 7.8) |       |
| Yes                                    | 548 (17.6)  | 5.7 (4.2 - 7.8) |       |
| Ex-smoker                              | 173 (5.6)   | 5.2 (4 - 7.6)   |       |
| Illicit drug use (last 3 months)       |             |                 | 0.417 |
| No                                     | 3020 (96.8) | 5.6 (4.1 - 7.8) |       |
| Yes                                    | 101 (3.2)   | 6.1 (4.5 - 8.2) |       |
| Any corticosteroid use (last 3 months) |             |                 | 0.219 |
| No                                     | 2738 (88.2) | 5.6 (4.1 - 7.8) |       |
| Yes                                    | 367 (11.8)  | 5.7 (4.2 - 8.2) |       |
| Use of oral contraceptive              |             |                 | 0.594 |
| No                                     | 1201 (46.3) | 5.6 (4.1 - 7.6) |       |
| Yes                                    | 1394 (53.7) | 5.6 (4.2 - 8)   |       |
| Perceived Stress Scale                 |             |                 | 0.845 |
| Low                                    | 1435 (46.1) | 5.6 (4.1 - 7.5) |       |
| Medium                                 | 1522 (48.9) | 5.6 (4.2 - 8.1) |       |
| High                                   | 157 (5)     | 5.5 (4.3 - 8.1) |       |
| Natural hair color                     |             |                 | 0.049 |
| Brown                                  | 2292 (73.5) | 5.6 (4.1 - 7.8) |       |
| Black                                  | 534 (17.1)  | 5.8 (4.6 - 8.0) |       |
| Blond                                  | 271 (8.7)   | 5.0 (3.6 - 7.3) |       |
| Grey                                   | 2 (0.1)     | 6.2 (4.4 - 7.9) |       |
| Red                                    | 21 (0.7)    | 5.1 (3.3 - 7.1) |       |
| Hair treatment (last 3 months)         |             |                 | 0.016 |
| No                                     | 1534 (49.3) | 5.4 (4.1 - 7.5) |       |

|                                            |                     |                        |       |
|--------------------------------------------|---------------------|------------------------|-------|
| Yes                                        | 1576 (50.7)         | 5.7 (4.2 - 8.1)        |       |
| Hair type                                  |                     |                        | 0.068 |
| Straight                                   | 1019 (32.7)         | 5.4 (4.1 - 7.6)        |       |
| Wavy                                       | 1162 (37.3)         | 5.7 (4.2 - 8)          |       |
| Curly                                      | 509 (16.3)          | 5.7 (4.2 - 8.2)        |       |
| Kinky                                      | 428 (13.7)          | 5.3 (4.1 - 7.5)        |       |
| Frequency of hair washing (times per week) |                     |                        | 0.833 |
| < 2 times                                  | 366 (11.7)          | 5.6 (4.2 - 7.8)        |       |
| 2 – 5 times                                | 1829 (58.6)         | 5.6 (4.2 - 7.8)        |       |
| 5 – 7 times                                | 918 (29.4)          | 5.5 (4 - 7.8)          |       |
| ≥ 8 times                                  | 6 (0.2)             | 5.9 (3.2 - 9.2)        |       |
| Day of last hair wash                      |                     |                        | 0.003 |
| Day of interview                           | 722 (23.2)          | 5.2 (3.9 - 7.2)        |       |
| 1 day before interview                     | 1545 (49.6)         | 5.7 (4.2 - 8.1)        |       |
| 2+ days before interview                   | 851 (27.3)          | 5.6 (4.3 - 7.7)        |       |
| Last hair cut                              |                     |                        | 0.040 |
| <1 month                                   | 535 (17.2)          | 5.6 (4.0 - 7.9)        |       |
| 1-2 months                                 | 433 (13.9)          | 5.7 (4.2 – 8.0)        |       |
| 2-3 months                                 | 467 (15)            | 5.4 (4.0 - 7.6)        |       |
| >3 months                                  | 1614 (51.8)         | 5.7 (4.2 - 7.8)        |       |
| Never                                      | 68 (2.2)            | 5.1 (3.8 - 6.8)        |       |
| <b>HCC</b>                                 | <b>3129 (100.0)</b> | <b>5.6 (4.2 – 7.8)</b> |       |

\*Yellow (n=12); Indigenous (n=5)



Table 3. Adjusted linear regression of child HCC according to socioeconomic, substance use and hair related exposures.

|                                               | $\beta$ (IC95%)    | $p$   |
|-----------------------------------------------|--------------------|-------|
| Socioeconomic variables                       |                    |       |
| Sex                                           |                    | 0.276 |
| Male                                          | Ref.               |       |
| Female                                        | 1.04 (0.97 – 1.10) |       |
| Maternal skin color                           |                    | 0.632 |
| White                                         | Ref.               |       |
| Black                                         | 0.97 (0.90 – 1.04) |       |
| Brown                                         | 1.01 (0.94 – 1.09) |       |
| Other                                         | 1.18 (0.83 – 1.69) |       |
| Family income (minimum wage)                  |                    | 0.504 |
| ≤1.0                                          | Ref.               |       |
| 1.1 – 3.0                                     | 1.01 (0.92 – 1.10) |       |
| 3.1 – 6.0                                     | 1.00 (0.91 – 1.10) |       |
| 6.1 – 10.0                                    | 0.93 (0.82 – 1.05) |       |
| >10.0                                         | 0.95 (0.83 – 1.08) |       |
| Level of maternal schooling (completed years) |                    | 0.018 |
| 0-4                                           | Ref.               |       |
| 5-8                                           | 0.84 (0.74 – 0.95) |       |
| 9-11                                          | 0.90 (0.80 – 1.02) |       |
| 12 or more                                    | 0.88 (0.78 – 0.99) |       |
| Overcrowded housing                           |                    | 0.415 |
| No                                            | Ref.               |       |
| Yes                                           | 0.97 (0.90 – 1.05) |       |
| Goes to nursery/school                        |                    | 0.287 |

|                                            |                    |       |
|--------------------------------------------|--------------------|-------|
| No                                         | Ref.               |       |
| Yes, public                                | 0.98 (0.92 – 1.05) |       |
| Yes, private                               | 0.95 (0.89 – 1.01) |       |
| Substance use variables                    |                    |       |
| Passive smoking                            |                    | 0.983 |
| No                                         | Ref.               |       |
| Yes                                        | 1.00 (0.95 – 1.05) |       |
| Any corticosteroid use (last 3 months)     |                    | 0.158 |
| No                                         | Ref.               |       |
| Yes                                        | 1.04 (0.99 – 1.10) |       |
| Hair related variables                     |                    |       |
| Natural hair color                         |                    | 0.242 |
| Brown                                      | Ref.               |       |
| Black                                      | 1.03 (0.95 – 1.11) |       |
| Blond                                      | 0.96 (0.90 – 1.02) |       |
| Red                                        | 0.83 (0.62 – 1.11) |       |
| Hair treatment (last 3 months)             |                    | 0.822 |
| No                                         | Ref.               |       |
| Yes                                        | 1.03 (0.82 – 1.29) |       |
| Hair type                                  |                    | 0.233 |
| Straight                                   | Ref.               |       |
| Wavy                                       | 0.95 (0.89 – 1.00) |       |
| Curly                                      | 0.97 (0.91 – 1.04) |       |
| Kinky                                      | 0.94 (0.86 – 1.02) |       |
| Frequency of hair washing (times per week) |                    | 0.401 |
| < 2 times                                  | Ref.               |       |
| 2 – 5 times                                | 1.03 (0.93 – 1.15) |       |

|                          |                    |       |
|--------------------------|--------------------|-------|
| 5 – 7 times              | 1.07 (0.96 – 1.19) |       |
| ≥ 8 times                | 0.97 (0.64 – 1.47) |       |
| Day of last hair wash    |                    | 0.098 |
| Day of interview         | Ref.               |       |
| 1 day before interview   | 1.04 (0.98 – 1.10) |       |
| 2+ days before interview | 0.97 (0.90 – 1.05) |       |
| Last hair cut            |                    | 0.060 |
| <1 month                 | Ref.               |       |
| 1-2 months               | 1.07 (1.00 – 1.15) |       |
| 2-3 months               | 1.06 (0.96 – 1.16) |       |
| >3 months                | 1.10 (1.03 – 1.18) |       |
| Never                    | 1.08 (1.01 – 1.15) |       |

\*Yellow (n=12); Indigenous (n=5)

Table 4. Adjusted linear regression of maternal HCC according to socioeconomic, substance use, perceived stress and hair related exposures

|                              | $\beta$ (IC95%)    | $p$   |
|------------------------------|--------------------|-------|
| Socioeconomic variables      |                    |       |
| Age (in years)               |                    | 0.034 |
| <20                          | Ref.               |       |
| 20-34                        | 0.91 (0.76 – 1.08) |       |
| ≥35                          | 0.96 (0.80 – 1.15) |       |
| Skin color                   |                    | 0.046 |
| White                        | Ref.               |       |
| Black                        | 0.93 (0.87 – 0.99) |       |
| Brown                        | 0.94 (0.88 – 1.00) |       |
| Other                        | 1.05 (0.79 – 1.39) |       |
| Family income (minimum wage) |                    | 0.087 |
| ≤1.0                         | Ref.               |       |
| 1.1 – 3.0                    | 1.01 (0.94 – 1.09) |       |
| 3.1 – 6.0                    | 0.98 (0.90 – 1.07) |       |
| 6.1 – 10.0                   | 0.92 (0.82 – 1.02) |       |
| >10.0                        | 0.91 (0.81 – 1.02) |       |
| Education (completed years)  |                    | 0.019 |
| 0-4                          | Ref.               |       |
| 5-8                          | 0.88 (0.78 – 1.00) |       |
| 9-11                         | 0.93 (0.82 – 1.05) |       |
| 12 or more                   | 0.87 (0.77 – 0.99) |       |
| Overcrowded housing          |                    | 0.617 |
| No                           | Ref.               |       |
| Yes                          | 1.02 (0.95 – 1.09) |       |

|                                        |                    |        |
|----------------------------------------|--------------------|--------|
| Currently pregnant                     |                    | 0.004  |
| No                                     | Ref.               |        |
| Yes                                    | 1.16 (1.05 – 1.28) |        |
| Substance use variables                |                    |        |
| Currently smokes                       |                    | 0.587  |
| No                                     | Ref.               |        |
| Yes                                    | 1.03 (0.97 – 1.10) |        |
| Ex-smoker                              | 0.98 (0.89 – 1.08) |        |
| Illicit drug use (last 3 months)       |                    | 0.846  |
| No                                     | Ref.               |        |
| Yes                                    | 1.01 (0.88 – 1.16) |        |
| Any corticosteroid use (last 3 months) |                    | 0.016  |
| No                                     | Ref.               |        |
| Yes                                    | 1.08 (1.01 – 1.15) |        |
| Use of oral contraceptive              |                    | 0.255  |
| No                                     | Ref.               |        |
| Yes                                    | 1.03 (0.98 – 1.08) |        |
| Stress variable                        |                    |        |
| Perceived Stress Scale                 |                    | 0.975  |
| Low                                    | Ref.               |        |
| Medium                                 | 1.00 (0.96 – 1.04) |        |
| High                                   | 1.01 (0.92 – 1.11) |        |
| Hair related variables                 |                    |        |
| Natural hair color                     |                    | <0.001 |
| Brown                                  | Ref.               |        |
| Black                                  | 1.08 (1.03 – 1.14) |        |
| Blond                                  | 0.91 (0.84 – 0.98) |        |

|                                            |                    |       |
|--------------------------------------------|--------------------|-------|
| Grey                                       | 1.02 (0.46 – 2.28) |       |
| Red                                        | 0.83 (0.65 – 1.07) |       |
| Hair treatment (last 3 months)             |                    | 0.458 |
| No                                         | Ref.               |       |
| Yes                                        | 1.02 (0.97 – 1.06) |       |
| Hair type                                  |                    | 0.200 |
| Straight                                   | Ref.               |       |
| Wavy                                       | 1.02 (0.97 – 1.07) |       |
| Curly                                      | 1.03 (0.96 – 1.09) |       |
| Kinky                                      | 0.96 (0.89 – 1.02) |       |
| Frequency of hair washing (times per week) |                    | 0.252 |
| < 2 days                                   | Ref.               |       |
| 2 – 5 days                                 | 0.98 (0.91 – 1.05) |       |
| 5 – 7 days                                 | 0.97 (0.90 – 1.05) |       |
| ≥ 8 days                                   | 0.62 (0.39 – 1.00) |       |
| Day of last hair wash                      |                    | 0.003 |
| Day of interview                           | Ref.               |       |
| 1 day before interview                     | 1.09 (1.04 – 1.15) |       |
| 2+ days before interview                   | 1.07 (1.01 – 1.13) |       |
| Last hair cut                              |                    | 0.040 |
| <1 month                                   | Ref.               |       |
| 1-2 months                                 | 1.04 (0.97 – 1.12) |       |
| 2-3 months                                 | 0.99 (0.92 – 1.06) |       |
| >3 months                                  | 1.04 (0.99 – 1.10) |       |
| Never                                      | 0.86 (0.75 – 1.00) |       |

---

\*Yellow (n=12); Indigenous (n=5)

## 5. References

1. Gunnar M, Quevedo K. The Neurobiology of Stress and Development. *Annu Rev Psychol.* 2007;58(1):145–73. Available from: <http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.psych.58.110405.085605>
2. Inoue N. Stress and Atherosclerotic Cardiovascular Disease. *J Atheroscler Thromb.* 2014;21(5):391–401. Available from: <http://jlc.jst.go.jp/DN/JST.JSTAGE/jat/21709?lang=en&from=CrossRef&type=abstract>
3. Dedovic K, Ngiam J. The cortisol awakening response and major depression: examining the evidence. *Neuropsychiatr Dis Treat.* 2015;1181. Available from: <http://www.dovepress.com/the-cortisol-awakening-response-and-major-depression-examining-the-evi-peer-reviewed-article-NDT>
4. Sinha R, Jastreboff AM. Stress as a Common Risk Factor for Obesity and Addiction. *Biol Psychiatry.* 2013;73(9):827–35. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0006322313001340>
5. AIS: The American Institute of Stress. What is stress?
6. Guilliams T, Edwards L. Chronic Stress and the HPA Axis: Clinical Assessment and Therapeutic Considerations. 2010;9(2):1–12.
7. Bangerter LR, Liu Y, Kim K, Zarit SH, Birditt KS, Fingerman KL. Everyday Support to Aging Parents: Links to Middle-Aged Children's Diurnal Cortisol and Daily Mood. *The Gerontologist.* 2017. Available from: <https://academic.oup.com/gerontologist/article-lookup/doi/10.1093/geront/gnw207>
8. Gonzalez A, Jenkins JM, Steiner M, Fleming AS. Maternal Early Life Experiences and Parenting: The Mediating Role of Cortisol and Executive Function. *J Am Acad Child*

- Adolesc Psychiatry. 2012;51(7):673–82. Available from:  
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0890856712002857>
9. Bernard K, Frost A, Bennett CB, Lindhiem O. Maltreatment and diurnal cortisol regulation: A meta-analysis. *Psychoneuroendocrinology*. 2017;78:57–67. Available from:  
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0306453016306990>
  10. Vanaelst B, Huybrechts I, Bammann K, Michels N, Vriendt T, Vyncke K, et al. Intercorrelations between serum, salivary, and hair cortisol and child-reported estimates of stress in elementary school girls: Cortisol intercorrelations and childhood stress. *Psychophysiology*. 2012;49(8):1-10. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1469-8986.2012.01396.x>
  11. Manenschijn L, Koper JW, Lamberts SWJ, van Rossum EFC. Evaluation of a method to measure long term cortisol levels. *Steroids*. 2011;76(10–11):1032–6. Available from:  
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0039128X11001383>
  12. Anand KJS, Rovnaghi CR, Rigdon J, Qin F, Tembulkar S, Murphy LE, et al. Demographic and psychosocial factors associated with hair cortisol concentrations in preschool children. *Pediatr Res*. 2020;87(6):1119–27. Available from: <http://www.nature.com/articles/s41390-019-0691-2>
  13. Fischer S, Duncko R, Hatch SL, Papadopoulos A, Goodwin L, Frissa S, et al. Sociodemographic, lifestyle, and psychosocial determinants of hair cortisol in a South London community sample. *Psychoneuroendocrinology*. 2017;76:144–53. Available from:  
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0306453016305923>
  14. Gray NA, Dhana A, Van Der Vyver L, Van Wyk J, Khumalo NP, Stein DJ. Determinants of hair cortisol concentration in children: A systematic review. *Psychoneuroendocrinology*. 2018;87:204–14. Available from:  
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0306453017312763>



15. Kristensen SK, Larsen SC, Olsen NJ, Fahrenkrug J, Heitmann BL. Hair dyeing, hair washing and hair cortisol concentrations among women from the healthy start study. *Psychoneuroendocrinology*. 2017;77:182–5. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0306453016306308>
  
16. Rippe RCA, Noppe G, Windhorst DA, Tiemeier H, van Rossum EFC, Jaddoe VWV, et al. Splitting hair for cortisol? Associations of socio-economic status, ethnicity, hair color, gender and other child characteristics with hair cortisol and cortisone. *Psychoneuroendocrinology*. 2016;66:56–64. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0306453015300421>
  
17. Stalder T, Steudte-Schmiedgen S, Alexander N, Klucken T, Vater A, Wichmann S, et al. Stress-related and basic determinants of hair cortisol in humans: A meta-analysis. *Psychoneuroendocrinology*. 2017;77:261–74. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0306453016306114>
  
18. Hallal PC, Bertoldi AD, Domingues MR, da Silveira MF, Demarco FF, da Silva ICM, et al. Cohort Profile: The 2015 Pelotas (Brazil) Birth Cohort Study. *Int J Epidemiol*. 2018;47(4):1048–1048h. Available from: <https://academic.oup.com/ije/article/47/4/1048/4591650>
  
19. Harvard University. Center on the Developing Child [Internet]. Toxic Stress. 2021. Available from: [www.developingchild.harvard.edu/science/key-concepts/toxic-stress/](http://www.developingchild.harvard.edu/science/key-concepts/toxic-stress/)
  
20. Franke H. Toxic Stress: Effects, Prevention and Treatment. *Children*. 2014;1(3):390–402. Available from: <http://www.mdpi.com/2227-9067/1/3/390>
  
21. Young ME. Do Desenvolvimento da Primeira Infância ao Desenvolvimento Humano: Investindo no futuro de nossas crianças. São Paulo: Fundação Maria Cecília Souto Vidigal; 2010. 457 p.
  
22. American Psychological Association. Stress effects on the body. 2018.

23. Leppänen MH, Sääksjärvi K, Vepsäläinen H, Ray C, Hiltunen P, Koivusilta L, et al. Association of screen time with long-term stress and temperament in preschoolers: results from the DAGIS study. *Eur J Pediatr*. 2020 Nov;179(11):1805–12. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s00431-020-03686-5>
24. Helfrecht C, Hagen EH, DeAvila D, Bernstein RM, Dira SJ, Meehan CL. DHEAS patterning across childhood in three sub-Saharan populations: Associations with age, sex, ethnicity, and cortisol. *Am J Hum Biol*. 2018;30(2):e23090. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/ajhb.23090>
25. Bolhuis K, Tiemeier H, Jansen PR, Muetzel RL, Neumann A, Hillegers MHJ, et al. Interaction of schizophrenia polygenic risk and cortisol level on pre-adolescent brain structure. *Psychoneuroendocrinology*. 2019;101:295–303. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0306453018308862>
26. Sun Y, Fang J, Wan Y, Hu J, Xu Y, Tao F. Polygenic differential susceptibility to cumulative stress exposure and childhood obesity. *Int J Obes*. 2018;42(6):1177–84. Available from: <http://www.nature.com/articles/s41366-018-0116-z>
27. Molenaar NM, Tiemeier H, van Rossum EFC, Hillegers MHJ, Bockting CLH, Hoogendijk WJG, et al. Prenatal maternal psychopathology and stress and offspring HPA axis function at 6 years. *Psychoneuroendocrinology*. 2019;99:120–7. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0306453018305900>
28. Slopen N, Roberts AL, LeWinn KZ, Bush NR, Rovnaghi CR, Tyavsky F, et al. Maternal experiences of trauma and hair cortisol in early childhood in a prospective cohort. *Psychoneuroendocrinology*. 2018;98:168–76. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0306453018303366>
29. Palmer FB, Anand KJS, Graff JC, Murphy LE, Qu Y, Völgyi E, et al. Early Adversity, Socioemotional Development, and Stress in Urban 1-Year-Old Children. *J Pediatr*.

- 2013;163(6):1733-1739.e1. Available from:  
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022347613010020>
30. Michels N, Clarke G, Olavarria-Ramirez L, Gómez-Martínez S, Díaz LE, Marcos A, et al. Psychosocial stress and inflammation driving tryptophan breakdown in children and adolescents: A cross-sectional analysis of two cohorts. *Psychoneuroendocrinology*. 2018;94:104–11. Available from:  
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S030645301830266X>
31. Michels N, Van de Wiele T, Fouhy F, O'Mahony S, Clarke G, Keane J. Gut microbiome patterns depending on children's psychosocial stress: Reports versus biomarkers. *Brain Behav Immun*. 2019;80:751–62. Available from:  
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0889159118312145>
32. van Dammen L, de Rooij SR, Behnsen PM, Huizink AC. Sex-specific associations between person and environment-related childhood adverse events and levels of cortisol and DHEA in adolescence. Kavushansky A, editor. *PLOS ONE*. 2020;15(6):e0233718. Available from: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0233718>
33. Van Aart CJC, Nawrot TS, Sioen I, De Boever P, Zaqout M, De Henauw S, et al. Longitudinal association between psychosocial stress and retinal microvasculature in children and adolescents. *Psychoneuroendocrinology*. 2018;92:50–6. Available from:  
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0306453018301914>
34. Oumohand SE, Ward DD, Boenniger MM, Merten N, Kirschbaum C, Breteler MMB. Perceived stress but not hair cortisol concentration is related to adult cognitive performance. *Psychoneuroendocrinology*. 2020;121:104810. Available from:  
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0306453020302328>
35. Manenschijn L, Schaap L, van Schoor NM, van der Pas S, Peeters GMEE, Lips P, et al. High Long-Term Cortisol Levels, Measured in Scalp Hair, Are Associated With a History

- of Cardiovascular Disease. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013;98(5):2078–83. Available from: <https://academic.oup.com/jcem/article/98/5/2078/2537052>
36. Mazgelytė E, Karčiauskaitė D, Linkevičiūtė A, Mažeikienė A, Burokienė N, Matuzevičienė R, et al. Association of Hair Cortisol Concentration with Prevalence of Major Cardiovascular Risk Factors and Allostatic Load. *Med Sci Monit.* 2019;25:3573–82. Available from: <https://www.medscimonit.com/abstract/index/idArt/913532>
  37. Lupien SJ, McEwen BS, Gunnar MR, Heim C. Effects of stress throughout the lifespan on the brain, behaviour and cognition. *Nat Rev Neurosci.* 2009;10(6):434–45. Available from: <http://www.nature.com/articles/nrn2639>
  38. Ursache A, Merz EC, Melvin S, Meyer J, Noble KG. Socioeconomic status, hair cortisol and internalizing symptoms in parents and children. *Psychoneuroendocrinology.* 2017;78:142–50. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0306453016305170>
  39. Vaghri Z, Guhn M, Weinberg J, Grunau RE, Yu W, Hertzman C. Hair cortisol reflects socioeconomic factors and hair zinc in preschoolers. *Psychoneuroendocrinology.* 2013;38(3):331–40. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0306453012002247>
  40. Staufenbiel SM, Penninx BWJH, de Rijke YB, van den Akker ELT, van Rossum EFC. Determinants of hair cortisol and hair cortisone concentrations in adults. *Psychoneuroendocrinology.* 2015;60:182–94.
  41. Abell JG, Stalder T, Ferrie JE, Shipley MJ, Kirschbaum C, Kivimäki M, et al. Assessing cortisol from hair samples in a large observational cohort: The Whitehall II study. *Psychoneuroendocrinology.* 2016;73:148–56. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0306453016304619>

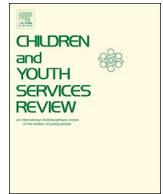
42. Dettenborn L, Tietze A, Kirschbaum C, Stalder T. The assessment of cortisol in human hair: Associations with sociodemographic variables and potential confounders. *Stress*. 2012;15(6):578–88. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/10253890.2012.654479>
43. Lu Q, Pan F, Ren L, Xiao J, Tao F. Sex differences in the association between internalizing symptoms and hair cortisol level among 10-12 year-old adolescents in China. *PloS One*. 2018;13(3):e0192901.
44. Remer T, Maser-Gluth C, Wudy SA. Glucocorticoid Measurements in Health and Disease – Metabolic Implications and the Potential of 24-h Urine Analyses. *Mini-Rev Med Chem*. 2008;8(2):153–70.
45. Wei J, Yuen EY, Liu W, Li X, Zhong P, Karatsoreos IN, et al. Estrogen protects against the detrimental effects of repeated stress on glutamatergic transmission and cognition. *Mol Psychiatry*. 2014;19(5):588–98. Available from: <http://www.nature.com/articles/mp201383>
46. Roney JR, Simmons ZL. Elevated Psychological Stress Predicts Reduced Estradiol Concentrations in Young Women. *Adapt Hum Behav Physiol*. 2015;1(1):30–40. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s40750-014-0004-2>
47. PNUD (Programa das Nações Unidas para o Desenvolvimento), IPEA (Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada), Fundação João Pinheiro. Atlas do Desenvolvimento Humano no Brasil - AtlasBR [Internet]. Available from: <http://www.atlasbrasil.org.br>
48. Salata A. Race, Class and Income Inequality in Brazil: A Social Trajectory Analysis. *Dados*. 2020;63(3):e20190063. Available from: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0011-52582020000300203&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0011-52582020000300203&tlng=en)
49. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Estudos e pesquisas - Informação Demográfica e Socioeconômica. 2019;(41):1–12.

50. Gunnar MR, Quevedo KM. Early care experiences and HPA axis regulation in children: a mechanism for later trauma vulnerability. In: Progress in Brain Research. Elsevier; 2007. p. 137–49. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0079612307670101>
51. Feller S, Vigl M, Bergmann MM, Boeing H, Kirschbaum C, Stalder T. Predictors of hair cortisol concentrations in older adults. Psychoneuroendocrinology. 2014;39:132–40.

## ARTIGO ORIGINAL 2

---

Publicado na revista “*Children and Youth Services Review*” em novembro de 2020



# Parental attendance in two early-childhood training programmes to improve nurturing care: A randomized controlled trial

Rafaela Costa Martins<sup>a,b,\*</sup>, Adriana Kramer Fiala Machado<sup>a</sup>, Yulia Shenderovich<sup>c</sup>,  
Tâmara Biolo Soares<sup>d</sup>, Suélen Henriques da Cruz<sup>a,b</sup>, Elisa Raquel Pisani Altafim<sup>e</sup>,  
Maria Beatriz Martins Linhares<sup>e</sup>, Fernando Barros<sup>a</sup>, Iná S. Santos<sup>a</sup>, Joseph Murray<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup> Post-graduate Programme in Epidemiology, Federal University of Pelotas, Brazil

<sup>b</sup> Human Development and Violence Research Centre (DOVE), Federal University of Pelotas, Brazil

<sup>c</sup> Centre for Evidence-Based Social Intervention, Department of Social Policy and Intervention, Barnett House, 32 Wellington Square, Oxford OX1 2ER, United Kingdom

<sup>d</sup> Instituto Cidade Segura, Brazil

<sup>e</sup> Department of Neurosciences and Behavior, Ribeirão Preto Medical School, University of São Paulo, Brazil

## ARTICLE INFO

### Keywords:

Parenting  
Randomized controlled trial  
Child  
Brazil  
Early intervention  
Educational

## ABSTRACT

Parent training programmes have significant potential to improve the quality of children's early environments and thereby their development and life-course outcomes. The aim of this study was to identify and explain the extent to which parents engaged in two group-based training programmes, offered to high-risk families enrolled in a randomized controlled trial study called PIÁ in Southern Brazil. The programmes were: (1) ACT: Raising Safe Kids, a 9-week programme aiming to reduce harsh parenting and maltreatment and improve positive parenting practices; (2) Dialogic book-sharing (DBS), an 8-week programme aiming to promote parental sensitivity and improve child cognitive development and social understanding. Of the 123 mothers randomly allocated to the ACT programme, 64.2% (n = 79) completed the course, and of 124 mothers allocated to DBS, 76.6% (n = 95) completed the course. After the interventions, mothers were very positive about the experience of both programmes but highlighted practical difficulties in attending. In adjusted regression analyses, only two variables significantly predicted ACT course completion (maternal age and distance between the intervention site and household); no significant predictor was found for DBS attendance. We conclude that although high completion rates are possible, there are important challenges to engaging parents of young children in training programmes, and practical difficulties occurring during training courses may be more important for attendance than baseline participant characteristics.

## 1. Introduction

Parent-training programmes aim to help parents build positive relationships with their children, use consistent, appropriate responses to child discipline problems, and stimulate optimal child development (Baker, Arnold, & Meagher, 2011). Such programmes have shown enormous potential to influence the quality of children's early environments and thereby their developmental and life-course outcomes. However, parental engagement in the training programmes is considered critical to their effectiveness (Nix, Bierman, McMahon, & The Conduct Problems Prevention Research Group, 2009; Weeland et al., 2017). Previous studies reported mixed results concerning participant attendance rates – about 39% to 81% (Annan, Sim, Puffer, Salhi, & Betancourt, 2017; Garvey, Julion, Fogg, Kratovil, & Gross, 2006;

Heinrichs, Bertram, Kuschel, & Hahlweg, 2005; Shenderovich et al., 2018). Even among well-established parenting training programmes for which numerous trials show positive impacts on parenting and child outcomes, attendance rates have not always been as good as hoped – Triple P: 48.2%; The Incredible Years: 69.0%; Project SafeCare: 10.0% (Gershater-Molko, Lutzker, & Wesch, 2003; Leijten, Raaijmakers, Castro, Ban, & Matthys, 2017; Ozbek, Gencer, & Mustan, 2018). If intervention up-take is poor under generally favourable conditions in research studies, this indicates a potentially serious problem for scale-up beyond the research setting, taking interventions to larger populations under less supervised and often less resourced conditions. As such, it is important to examine attendance rates and their determinants, as well as the impact of parental programmes for those who do actually adhere to them.

\* Corresponding author at: Marechal Deodoro St., 1160 3rd floor, 96020-220, Brazil.

E-mail address: [rafamartins1@gmail.com](mailto:rafamartins1@gmail.com) (R.C. Martins).

<https://doi.org/10.1016/j.childyouth.2020.105418>

Received 11 May 2020; Received in revised form 24 August 2020; Accepted 25 August 2020

Available online 29 August 2020

0190-7409/ © 2020 The Authors. Published by Elsevier Ltd. This is an open access article under the CC BY license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).



Many randomized trials have been conducted on the efficacy of parent-training programmes, for numerous parent and child outcomes. However, participant non-attendance in interventions can critically undermine study validity about programme effects, as well as carry implications for scale-up feasibility. If only a small proportion of allocated participants actually receive an intervention in a randomized trial, the true effects of the programme may be underestimated. This is because randomized trials should analyse data on an “intention to treat” basis to avoid bias (CONSORT, 2010) – comparing outcomes between the control group and *all* participants who were offered the intervention, regardless of whether they actually attended or completed the intervention. When trial participants fail to engage with interventions, researchers often resort to “per protocol” analyses (including only those that actually complete the intervention) with less reliable results since they were not randomized to that condition (CONSORT, 2010; Gupta, 2011). Furthermore, dropout decreases sample size and also statistical power (Baker et al., 2011). Therefore, advancing understanding of participation in parent training programmes is important to appropriately evaluate intervention effectiveness, as well for scale-up considerations.

Sociodemographic factors such as low socioeconomic status, ethnic minorities and single parenthood are some of the most consistent predictors of dropout in intervention programs (Bagner & Graziano, 2013; Baker et al., 2011; Chacko et al., 2016; Lavigne et al., 2010; Shenderovich et al., 2018). Parental psychological distress is also highlighted as of critical importance, affecting parents’ motivation to engage in an intervention, leading to lower attendance rate (Finan, Swierzbiolek, Priest, Warren, & Yap, 2018; Nock & Ferriter, 2005; Werba, Eyberg, Boggs, & Algina, 2006). Moreover, families that face problems like substance abuse or depression are less likely to engage in interventions (Bagner & Graziano, 2013). Among factors that have been found to support attendance in out of home interventions, offering transportation has been found to have a positive effect (Ingoldsby, 2010).

The current study of intervention attendance involves two group-based parenting programs known as ACT: Raising Safe Kids (ACT) and Dialogic Book-sharing (DBS). ACT is a short (9-week) low-cost programme with high cultural versatility developed by the American Psychological Association (APA). The aim of the programme is to help parents understand child development and raise their child without violence, using discussions and dramatizations. Attendance rates reported in previous studies of ACT range from 53% to 86% (Pontes, Siqueira, & Williams, 2019). ACT has been found to have some important benefits in terms of reducing harsh parenting and child conduct problems (Knox, Burkhart, & Hunter, 2010).

DBS is also a short (8-week) low-cost program, developed by the Mikhulu Trust in South Africa, and supported by the World Health Organization, in which parents learn how to interact sensitively and stimulate their child through book-sharing. The aim of the programme is to help parents support socio-cognitive and emotional development for their child. Attendance rates among prior studies using DBS methodology are around 88% (Vally, Murray, Tomlinson, & Cooper, 2015). DBS has been found to have some important benefits, in terms of sensitive and responsive parenting, and child attention, social understanding, and language development (Mikhulu Trust, 2019).

Although, participant attendance in parent-training programmes is seen as critical to their effectiveness in randomized controlled trials (Nix, Bierman, McMahon, & The Conduct Problems Prevention Research Group, 2009; Weeland et al., 2017), only a few such trials have been conducted in low-and middle-income countries, where it is estimated that around 43% of children are at risk for developmental delay (Lu, Black, & Richter, 2016). The current study was conducted in a middle-income country, Brazil (The World Bank, 2020), in the context of a randomized trial (PIÁ: the Pelotas Parenting Interventions for Aggression Trial). The main aim of the current analyses was to investigate the extent to which parents attended each of the two training

programmes, which were offered to high-risk families (children with more aggressive behaviours in poorer families), and possible predictors of attendance rates. In addition, we describe post-intervention evaluations of the interventions by mothers enrolled in the trial. Programme effects will be reported separately.

## 2. Material and methods

The PIÁ study is a randomised controlled trial nested in a birth cohort study (the 2015 Pelotas Birth Cohort Study; Hallal et al., 2018). PIÁ is a three-arm trial, including two parenting interventions: 1) ACT: Raising Safe Kids, a group-based parenting programme aiming to reduce harsh parenting and maltreatment, and improve positive parenting practices; 2) Dialogic book-sharing (DBS), a group-based parenting programme aiming to promote parental sensitivity and improve child cognitive development and social understanding. A control group, not analysed in the current investigation of adherence rates, was also included in the study, including mothers receiving services as usual, without any extra, researcher-led interventions.

The 2015 Pelotas Birth Cohort Study and the PIÁ trial were approved by the Ethics Research Committee of the School of Physical Education from the Federal University of Pelotas and the Faculty of Medicine from the Federal University of Pelotas, respectively, under protocol numbers 26746414.5.0000.5313 and 2.602.769. All participants received full explanations about the study and signed an Informed Consent Form.

Data for the trial were collected between June 2018 and July 2019. The detailed methods of the trial are described elsewhere (Murray et al., 2019). The eligibility criteria for the trial were: a) participation in the 2015 Pelotas Birth Cohort Study follow-up when children were aged 2 years (95% of children recruited to the cohort were assessed at age 2); b) resident in the Pelotas city urban district; c) in the poorest 30% of the cohort families; d) children not considered as having signs of serious development delay (10% with lowest scores on development delay at age 2 years were excluded); e) children did not have low aggression scores (31% with lowest scores at age 2 years), because the trial aimed to prevent chronic child aggression; f) mothers and children did not have visual, speech or auditory impairment prohibiting participation in the interventions; g) the child was not a twin with a live sibling; h) the mother lives with the child at least 4 days a week; i) the mother reported potential availability to participate in 9 weekly parent training sessions, if invited – i.e. she did not indicate that critical work commitments or other issues would prohibit participating.

Recruitment to the study was conducted by a team phoning and house-calling mothers who had been identified as eligible from previous cohort assessments and inviting them to schedule an appointment for baseline assessment. For the ACT programme, mothers were invited to attend weekly 2-hour sessions, for 9 weeks. For DBS, mothers and their children were invited to attend one 1 ½ hour training sessions each week for 8 weeks. The week after baseline assessment, interventions began. On average, four weeks after the end of intervention, participants were invited for assessments again at the research centre.

After identifying eligible participants from the cohort and inviting sufficient numbers to participate (given power analysis for programme effectiveness; Murray et al., 2019), the trial sample included 369 mother–child dyads. Participant children were 2–3 years old at baseline. Immediately after baseline assessment, mother–child pairs were randomly assigned to one of the groups: 1) ACT: Raising Safe Kids, ( $n = 123$ ), or 2) Dialogic book-sharing (DBS), ( $n = 121$ ); or a Control group ( $n = 122$ ), not considered further in the current analyses.

To encourage adherence to the two parenting programmes, a number of efforts were made by the trial research team and local government partner which implemented the interventions. First, for mothers allocated to an intervention group, the potential benefits of the intervention were emphasised face-to-face by a senior member of the research team after randomization; a video was shown about the

benefits of the intervention related by a local mother who had previously completed the programme, and a leaflet was provided summarising this information. Second, to facilitate access, the programme group sessions were organised by neighbourhood and transport links, with mothers living in the same neighbourhood participating in the same group. Third, the timing of the sessions was organised by asking each mother when, during the week, she would be available to participate, and booking the group sessions according to when all could potentially participate. Fourth, telephone calls and messages were sent as reminders prior to each session. Fifth, childcare assistance was provided during the programme sessions, as well as snacks and financial assistance for transportation. In addition, for the first session, and on subsequent very rainy days, a van was organised to take mothers from their homes to the group sessions. At the end of the intervention, each mother received a certificate of participation and those completing the intervention were entered into a raffle (with two Android tablets as prizes). In addition, when mothers missed a particular programme session, they were invited to recuperate that session by joining in with another class, wherever possible.

Facilitator training in ACT was conducted via a 2-day workshop given by a postdoctoral psychologist and an ACT master trainer certified by the Violence Prevention Office of the APA (American Psychological Association). Facilitator training in DBS was delivered by David Jeffery of the Mikhulu Trust ([www.mikhulutrust.org](http://www.mikhulutrust.org)) in a 5-day course, with support from two supervisor researchers, who had also received prior DBS training. The training for each programme aimed to teach facilitators the content of the course, and how to deliver the course as well as possible, with high fidelity to the programme. Facilitators of ACT were senior school coordinators and social workers from municipal schools, and the facilitators of DBS were younger people working with vulnerable families in the Brazilian programme called PIM (*Primeira Infância Melhor*), which is a state home-visiting programme to support early child development among at-risk families.

ACT and DBS were implemented by Pelotas municipal government staff, under supervision by the research team, between July and December 2018. During the ACT sessions, a co-facilitator completed the session checklist ensuring that all the activities of the ACT programme had been conducted properly and, when necessary, reminding the facilitator of some activity or complementing the facilitator's statements according to the programme guide. Additionally, weekly supervision sessions were held with between the ACT facilitators and a senior psychologist member of the research team, who also participated in the ACT training workshop. In ACT there were two facilitators for each session, and in DBS a single facilitator conducted the sessions. In both ACT and DBS, facilitators received weekly supervision from one of the research staff who had supported facilitator-training.

Participant attendance at each training session was recorded by the programme facilitator and communicated to the research team. We classified mothers as having completed the programmes if they participated in at least 7 out of 9 ACT sessions and 6 out of 8 DBS sessions, as defined by (ACT) and with (DBS) the programme developers. We examined possible correlates of programme attendance based on data collected prior to the trial (during the 24-month follow-up of the 2015 Pelotas Birth Cohort), as well as at the trial baseline assessment, and maternal evaluations of the interventions at the post-intervention assessment.

### 2.1. Potential correlates of programme attendance

From the 24-month cohort follow-up assessment, we examined the following variables as potential correlates of attendance in the parenting programmes: monthly family income (in quintiles), maternal education (categorized as 0–4, 5–8, 9 or more years of study), maternal relationship (without or with partner), household overcrowding (defined as the three or more people living in the house per room used to sleep), date of first intervention session (given seasonal [weather]

changes through the study period), distance between training centre location and the mother's home, calculated using Google Maps (for mothers who completed sessions at more than one centre, a weighted mean was calculated considering the number of sessions attended at each centre), and involvement in other interventions since pregnancy. As well as interventions in the PIÁ trial, we coded whether mothers had participated in three other local interventions, to test whether participation in multiple parenting programmes/trials might affect attendance in the programmes of the PIÁ trial. For this purpose, we measured participation in one intervention called PIM (*"Primeira Infância Melhor"* – a state government home-visiting programme to support child development among vulnerable families), and participation in one of two previous trials nested in the same birth cohort study: PAMELA (Domingues, Bassani, da Silva, & de Coll, 2015), a physical activity trial during gestation, and the Sleep Trial (Santos et al., 2016), implemented when children were 3 months old, providing guidance aimed to improve child sleep.

From the PIÁ trial baseline assessment, the following variables were considered possible correlates of programme attendance: maternal age (dichotomized as  $\leq 25$ ,  $> 25$  years); only child (yes or no); time spent with the study child during weekdays (categorized as 24 h or less), maternal intimate partner violence (scored positively on any of 13 questions from the WHO Violence against Woman questionnaire; García-Moreno, Jansen, Ellsberg, Heise, & Watts, 2005). We used the "Parenting and Family Adjustment Scales" (PAFAS), previously applied and tested in Brazil (Altafim, McCoy, & Linhares, 2018; Santana, 2018), which evaluates parental practices and family adjustment in 40 items, to analyze harsh parenting (highest tercile on the coercive parenting subscale), positive and involved parenting (highest tercile on the parent-child relationship scale), and inconsistent discipline (highest tercile on the parental consistency sub-scale) (Sanders, Morawska, Haslam, Filus, & Fletcher, 2014) as possible predictors of intervention attendance. Child maltreatment was measured using the Juvenile Victimization Questionnaire (JVQ-R2), a 34 items questionnaire; maltreatment was coded positively if a positive answer was given to any of the 4 questions on lifetime maltreatment plus sexual assault by a known adult (Finkelhor, Hamby, Ormrod, & Turner, 2005). Child conduct problem was measured using the Strengths and Difficulties Questionnaire (SDQ), with a score  $> 3$  considered the cut-off for elevated conduct problems (Fleitch, Cortázar, & Goodman, 2000; Goodman, Ford, Simmons, Gatward, & Meltzer, 2000); previously applied in Brazil (Salatino-Oliveira et al., 2016). For maternal alcohol consumption, we used the AUDIT (Alcohol Use Disorders Identification Test), a 10-item questionnaire for screening of alcohol disorders: a score  $> 7$  indicates alcohol-related disorder (Saunders, Aasland, Babor, De La Fuente, & Grant, 1993); the questionnaire was previously translated for Portuguese (Mendéz, 1999). This questionnaire was added to the assessment battery shortly after the start of the study, so has more missing data than other questionnaires. We used the Edinburgh Postnatal Depression Scale (EPDS) for maternal depression screening. The questionnaire was validated for Brazil, comprises 10 items and the maximum score was 30; a score  $\geq 8$  was considered as the cut-off for maternal depression (Matijasevich et al., 2014). Last, for maternal perceived stress we used the Perceived Stress Scale (PSS), a 10-item questionnaire that was categorized as low, moderate and high stress levels (Cohen, Kamarck, & Mermelstein, 1983), and previously translated and validated in Brazil (Faro, 2015; Luft, Sanches, Mazo, & Andrade, 2007).

During the post-intervention phase, all mothers in the trial (100% retention) returned to the research centre for assessments, and those who had been allocated to ACT/DBS groups were asked about their perceptions of the programmes. Due to logistic problems, this questionnaire was not completed by all mothers. From these reports, we considered, as possible correlates of programme attendance, overall satisfaction with the intervention (from the question "How satisfied you are with the help you received?"), and perceived distance from the intervention centre (from the question "Was the intervention near my

home?”). We also describe maternal perceptions of the programmes from the post-intervention assessments, in terms of quality, level of participation in discussions, difficulty level of sessions (measured as the average of difficulty indicated for each session in which the mother participated), whether the mother would recommend the intervention to others, and if she plans to use what she has learned. Hence, although we do not have an observational measure for each mother of positive engagement in the sessions she went to, these reports provide summary information of maternal experiences and engagement of participating in the programmes.

## 2.2. Data analytic plan

Descriptive analyses were conducted to show relative and absolute frequencies of attendance in ACT and DBS according to possible predictors. Associations were assessed by Fisher's exact test to obtain *p*-values, using a statistical significance level of 5%. Crude and adjusted analyses of associations between programme completion (yes or no) and the predictors were analysed using logistic regression to obtain the odds ratio; for supplementary analyses of the number of sessions attended, we used Poisson regression with robust variance to obtain incidence rate ratio. Statistical analyses were performed using Stata software version 15.0 (StataCorp LP, College Station, USA). Satisfaction data are reported separately for ACT and DBS.

We used a seven-level hierarchical conceptual model to structure the adjusted analysis, based on an ecological model, considering first distal family sociodemographic factors, and adding in subsequent models more proximal factors closer to the child, as well as finally including practical variables related to the current and past interventions and trials. In the first level, we included the following variables: maternal age, maternal schooling, maternal relationship, family income, only child, overcrowded houses and time spent with the child during weekdays. In the second level, we inserted the behavioural maternal variables (stress and depression). In the third level, domestic violence and child maltreatment were added to the model. In the fourth level, parenting variables were added (harsh parenting, positive and involved parenting and inconsistent discipline). In the fifth level, variables indicating participation in PIM and participation in any other trial were included. In the sixth level, child conduct problems were added; and in the last level, we added variables indicating the distance between home and the programme centre, satisfaction with the programme and date of first session. Both perceived and calculated distance were inserted to the model because they were not collinear ( $VIF < 10$ ). In the adjusted analyses, the variables were inserted into the model using backwards selection, each level at a time, excluding those variables with  $p < 0.20$ .

## 3. Results

Of the 123 mothers invited to participate in the ACT programme, 64.2% ( $n = 79$ ) completed the intervention, and of the 124 mothers invited to participate in DBS, 76.6% ( $n = 95$ ) completed the intervention. This overall difference in completion rates between the two interventions was significant (DBS > ACT,  $p < 0.05$ ). Also, compared to DBS, more mothers invited to participate in ACT did not even start the course – 17.1% for ACT versus 14.5% for DBS, but this difference was not significant ( $p = 0.61$ ). Among the 39 mothers who did not start either course, the most commonly reported reason given was job related ( $n = 15$ ), followed by lack of interest ( $n = 7$ ). As shown in Fig. 1, mothers allocated to ACT also had a higher rate of decline in participating in the subsequent two sessions compared to the DBS group. From the third session onwards, participation in the ACT group stabilized at about 63%. In the DBS group, there was a sustained smooth decline in maternal attendance at the course sessions, from session number 1 to session number 7.

Of all mothers who were invited to participate in ACT or DBS

( $n = 247$ ), the majority were > 25 years old (61.9%), with 5–8 years of schooling (48.2%), and with a partner (71.1%). Most mothers (60.8%) spent most of their time looking after their children. Most did not have any alcohol disorder (96.6%), but just over half screened positive for depression (53.9%), and most reported moderate levels of stress (68.7%). Regarding parenting practices, most mothers reported relatively positive and involved parenting practices (78.9%), with few reporting inconsistent discipline (19.9%), or harsh parenting practices (26.4%); however, 16.7% of children were reported to have suffered some form of maltreatment. Most children (71.7%) scored high on the SDQ conduct problem scale.

As shown in Table 1, few maternal or child characteristics were significantly associated with programme completion in ACT. Completion of the course was more common among younger mothers, those living nearer to the intervention site and those satisfied with the programme in post-intervention assessment interviews. Regarding DBS, no variable was significantly associated with programme completion.

Table 2 shows crude and adjusted logistic regression results for the potential predictors of completing each intervention. Alcohol consumption was subtracted of the raw and adjusted analysis, because only few mothers reported that behaviour. Also, for the maternal satisfaction with each program, we used only the categories “satisfied” and “very satisfied” due to the low number of respondents to “unsatisfied”. After adjustment, only three variables remained significant in the model for ACT (maternal age, distance between the intervention site and household, and satisfaction with the intervention). In DBS, no predictor was significant in the adjusted model. In the supplementary table, we also analysed possible predictors of the number of sessions that the mother attended for each programme (as count variables in Poisson regression), and similar results were obtained.

On returning for post-intervention assessment, 114 of the mothers in the ACT group reported on their experience of ACT, with 43.0% ( $n = 49$ ) saying they had found it difficult to attend the sessions. Of the 49 mothers, the following difficulties were cited: work issues (26.6%), lack of time (26.6%), no one available to care for the children (16.3%), health issues (12.2%), other family commitments (8.2%), distance to the programme centre (2.0%), pregnancy (2.0%), and a combination of multiple problems (6.1%). In DBS, out of 112 mothers reporting on their experience with that programme, 11.6% reported they had found it difficult to attend because of time issues (other possible difficulties were not asked about for DBS).

As shown in Table 3, in post-intervention assessment, most mothers, in both programme groups, reported that the quality of the instruction received had been “very good” (76.2% in DBS and 84.1% in ACT), and that they were satisfied with the programme experience (64.8% in DBS and 71.3% in ACT). Nearly all reported participating in the group discussions (95.2% in DBS and 91.0% in ACT), and the vast majority found the programme content easy to follow (91.3% in DBS and 84.2% in ACT). All mothers reported that they would recommend the programmes to a friend and all mothers in DBS and 99% of mothers in ACT said that they planned to continue to use the content learned in the programmes. When asked about the distance of the programme centre from their homes, 51.4% of DBS and 54.5% of ACT participants reported that it was far. Regarding financial assistance for food and transportation, around 71.3% of DBS and 77.1% of ACT participants said this was very important to help them participate in the sessions. There was no difference between ACT and DBS related to any variable analysed in Table 3.

## 4. Discussion

Although parent-training programmes have great potential to improve the caregiving environment and thereby support child development, parent engagement with such programmes is critical to effectiveness. In the context of a randomized trial evaluating two group-based parent-training programmes for mothers of young children, we

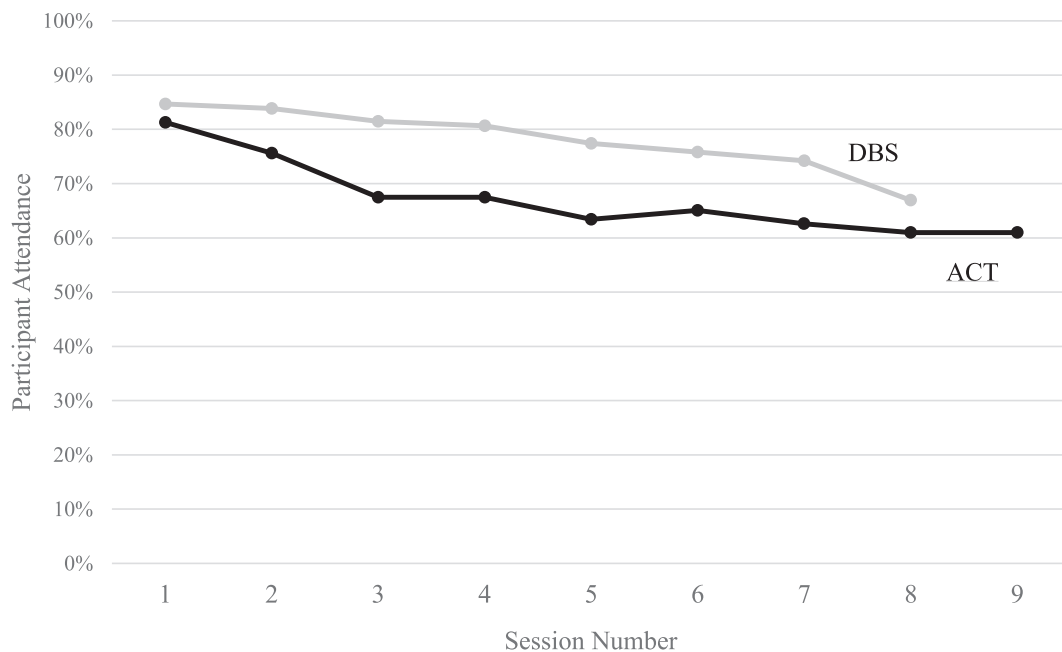


Fig. 1. Percentage of participants attending each session in DBS and ACT.

examined the extent to which mothers who were invited to participate, attended each programme, and their self-reports of their experiences with the programmes. For both programmes (ACT and DBS), a significant proportion (15–20%) of mothers who were invited to participate did not start the course, despite significant efforts to relate the potential benefits of the programme for children, and to make attendance as easy as possible, in terms of programme location, support such as transportation, and timing of sessions. A parent-training prevention programme in the United States addressing child conduct problems identified a similar pattern of non-participation starting in the first session (Baker et al., 2011).

After the start of the parenting programmes in the current study, participation in the subsequent sessions of the DBS programme was higher than in the ACT programme. The following hypotheses might explain this difference in adherence between the two programmes, despite their broadly similar format (short, group-based, free, weekly training sessions): a) the content of ACT programme (aiming to address harsh parenting) may have been less attractive to mothers than the DBS programme which focuses on a positive activity of book-sharing; b) the additional time required for ACT sessions might have been a deterrent (2 h rather than 1½ hours in DBS); c) the facilitators had different characteristics – ACT was implemented by school coordinators and social workers, while DBS was implemented by people working with vulnerable families in the health sector; d) ACT is implemented with mothers only (children are not involved), and it is recommended that children do not participate in ACT sessions (although childcare was provided during ACT sessions in the current trial); the fact that DBS requires child participation may have helped with maternal attendance in DBS. Additionally, regarding the ACT program, the bond between the facilitator and the group is fundamental for the content of the programme to be covered adequately. This relationship is strengthened throughout the sessions and may be related to the participation attendance stabilization from the third session on.

After the initial programme sessions, each programme had a somewhat different pattern of attendance – with 64% of mothers completing the ACT programme, and 77% of mothers completing the DBS course. The final retention rate in the ACT programme was similar to a previous RCT in Brazil (66%; Altafim & Linhares, 2019), and within the range of rates observed in other ACT studies internationally, ranging from 53% to 86% (Pontes et al., 2019). Regarding DBS, the rate of

completing all eight sessions was higher in a study in South Africa (88% against 64% in our study) (Vally et al., 2015). These findings indicate particular difficulty in engaging all mothers at the beginning of a programme and, depending on the programme, the need for extra efforts to maximize adherence especially during the first few sessions.

Mothers reported a number of difficulties that hampered attending all programme sessions, many of which were similar to those reported in a previous study of the ACT programme in Brazil. The main dropout reasons mentioned by participants were difficulties with the time of the meetings (even though these had been organised to fit with mothers' schedules at the start of our study), work issues, and health and family issues (Altafim, Pedro, & Linhares, 2016). Given the efforts that were made in the current study to engage mothers in both programmes, and make participation as practical and attractive as possible, it is a concern that these types of problems may have a greater impact on attendance when such programmes are implemented at scale. Another element that could affect attendance is social desirability, since people may not feel comfortable saying they don't like the programme or the group, but it's acceptable to say they are busy (Zemore, 2012).

The possible predictors of programme completion we examined in this study were selected based on relevance to the programme type and prior studies of programme adherence (Shenderovich et al., 2018). An interesting finding of our study was that very few maternal or child characteristics predicted ACT or DBS attendance. After adjustment, the only three predictors of ACT attendance were maternal age, household distance from intervention's site and maternal satisfaction with the intervention; in DBS there was no significant predictor. Regarding both programmes, mothers expressed high degrees of satisfaction with the courses, and the most satisfied mothers had higher attendance rates (for ACT only).

The lack of more predictors of programme completion might be explained by the efforts made in this trial to increase programme attendance, reducing the impact of some otherwise important variables. Another possible reason for the many null results is the relatively homogenous group selected for the interventions (i.e. high-risk families defined by high poverty levels and with more difficult child behaviour); this might have reduced the variability in otherwise potentially important predictors. Perhaps most plausibly, the most important determinants of attendance might be more dynamic (e.g. unpleasant weather during a particularly cold winter, illness in the family, or other

**Table 1**  
Correlates of completing DBS and ACT parenting programmes in Pelotas, Brazil.

|                                               | ACT |                            |         | DBS |                            |         |
|-----------------------------------------------|-----|----------------------------|---------|-----|----------------------------|---------|
|                                               | N   | Completed Intervention (%) | p-value | N   | Completed Intervention (%) | p-value |
| Maternal age                                  |     |                            | 0.01    |     |                            | 0.82    |
| ≤ 25                                          | 58  | 44 (75.9)                  |         | 36  | 27 (75.0)                  |         |
| > 25                                          | 65  | 35 (53.9)                  |         | 88  | 68 (77.3)                  |         |
| Maternal education (years)                    |     |                            | 0.76    |     |                            | 0.46    |
| 0–4                                           | 18  | 13 (72.2)                  |         | 22  | 15 (68.2)                  |         |
| 5–8                                           | 58  | 37 (63.8)                  |         | 61  | 49 (80.3)                  |         |
| 9+                                            | 47  | 29 (61.7)                  |         | 41  | 31 (75.6)                  |         |
| Maternal relationship                         |     |                            | 0.54    |     |                            | 0.48    |
| Without partner                               | 34  | 22 (64.7)                  |         | 37  | 29 (78.4)                  |         |
| With partner                                  | 88  | 56 (63.6)                  |         | 87  | 66 (75.9)                  |         |
| Family income (tertile)                       |     |                            | 0.65    |     |                            | 0.76    |
| 1° (poorest)                                  | 43  | 30 (69.8)                  |         | 40  | 31 (77.5)                  |         |
| 2°                                            | 35  | 22 (62.9)                  |         | 48  | 38 (79.2)                  |         |
| 3° (richest)                                  | 45  | 27 (60.0)                  |         | 36  | 26 (77.2)                  |         |
| Only child                                    |     |                            | 0.13    |     |                            | 0.51    |
| Yes                                           | 54  | 39 (72.2)                  |         | 46  | 37 (80.4)                  |         |
| No                                            | 69  | 40 (58.0)                  |         | 78  | 58 (74.4)                  |         |
| Overcrowding                                  |     |                            | 0.26    |     |                            | 0.39    |
| < 3 individuals per room                      | 53  | 31 (58.5)                  |         | 76  | 56 (73.7)                  |         |
| ≥ 3 individuals per room                      | 70  | 48 (68.6)                  |         | 48  | 39 (81.3)                  |         |
| Time mother spends with child during weekdays |     |                            | 0.18    |     |                            | 0.20    |
| < 24 h                                        | 49  | 35 (71.4)                  |         | 47  | 33 (70.2)                  |         |
| All the time                                  | 72  | 42 (58.3)                  |         | 77  | 62 (80.5)                  |         |
| Maternal alcohol use                          |     |                            | 1.00    |     |                            | 0.64    |
| No                                            | 98  | 62 (63.3)                  |         | 101 | 76 (75.3)                  |         |
| Yes                                           | 1   | 1 (100.0)                  |         | 6   | 4 (66.7)                   |         |
| Maternal depression                           |     |                            | 1.00    |     |                            | 0.83    |
| No                                            | 61  | 39 (63.9)                  |         | 53  | 40 (75.5)                  |         |
| Yes                                           | 62  | 40 (64.5)                  |         | 71  | 55 (77.5)                  |         |
| Maternal perceived stress                     |     |                            | 0.69    |     |                            | 0.77    |
| Low                                           | 25  | 15 (60.0)                  |         | 41  | 30 (73.2)                  |         |
| Moderate                                      | 93  | 61 (65.6)                  |         | 76  | 59 (77.6)                  |         |
| High                                          | 4   | 2 (50.0)                   |         | 7   | 6 (85.7)                   |         |
| Positive and involved parenting               |     |                            | 0.10    |     |                            | 1.00    |
| No                                            | 24  | 19 (79.2)                  |         | 28  | 22 (78.6)                  |         |
| Yes                                           | 98  | 59 (60.2)                  |         | 96  | 73 (76.0)                  |         |
| Harsh parenting                               |     |                            | 0.09    |     |                            | 0.23    |
| No                                            | 91  | 54 (59.3)                  |         | 90  | 66 (73.3)                  |         |
| Yes                                           | 31  | 24 (77.4)                  |         | 34  | 29 (85.3)                  |         |
| Inconsistent discipline                       |     |                            | 0.49    |     |                            | 0.60    |
| No                                            | 98  | 61 (62.2)                  |         | 99  | 77 (77.8)                  |         |
| Yes                                           | 24  | 17 (70.8)                  |         | 25  | 18 (72.0)                  |         |
| Child maltreatment                            |     |                            | 0.47    |     |                            | 1.00    |
| No                                            | 101 | 66 (65.4)                  |         | 104 | 80 (76.9)                  |         |
| Yes                                           | 21  | 12 (57.1)                  |         | 20  | 15 (75.0)                  |         |
| Child conduct problems                        |     |                            | 0.51    |     |                            | 0.18    |
| Normal                                        | 29  | 17 (58.6)                  |         | 41  | 28 (68.3)                  |         |
| High                                          | 94  | 62 (66.0)                  |         | 83  | 67 (80.7)                  |         |
| Maternal intimate partner violence            |     |                            | 0.98    |     |                            | 0.60    |
| Without partner                               | 34  | 22 (64.7)                  |         | 37  | 29 (78.4)                  |         |
| No                                            | 65  | 41 (63.1)                  |         | 58  | 42 (72.4)                  |         |
| Yes                                           | 23  | 15 (65.2)                  |         | 29  | 24 (82.8)                  |         |
| Participated in PIM                           |     |                            | 0.65    |     |                            | 0.15    |
| No                                            | 97  | 61 (62.9)                  |         | 91  | 73 (80.2)                  |         |
| Yes                                           | 26  | 18 (69.2)                  |         | 33  | 22 (66.7)                  |         |
| Participated in any other trial               |     |                            | 1.00    |     |                            | 0.79    |
| No                                            | 93  | 60 (64.5)                  |         | 101 | 78 (77.2)                  |         |
| Yes                                           | 30  | 19 (63.3)                  |         | 23  | 17 (73.9)                  |         |
| Month of the first session                    |     |                            | 0.18    |     |                            | 0.07    |
| July                                          | 31  | 27 (87.1)                  |         | 28  | 22 (78.6)                  |         |
| August                                        | 34  | 23 (67.7)                  |         | 49  | 34 (69.4)                  |         |
| September to November                         | 37  | 29 (78.4)                  |         | 44  | 39 (88.6)                  |         |
| Perceived distance from DBS/ACT centre        |     |                            | 0.06    |     |                            | 0.53    |

(continued on next page)



Table 1 (continued)

|                                    | ACT        |                            |         | DBS        |                            |         |
|------------------------------------|------------|----------------------------|---------|------------|----------------------------|---------|
|                                    | N          | Completed Intervention (%) | p-value | N          | Completed Intervention (%) | p-value |
| Far                                | 55         | 39 (70.9)                  | 0.15    | 51         | 47 (87.0)                  | 0.50    |
| Near                               | 46         | 40 (87.0)                  |         | 54         | 47 (92.2)                  |         |
| Distance from DBS/ACT centre (km)  |            |                            |         |            |                            |         |
| ≤1.5                               | 47         | 36 (76.6)                  | 0.02    | 35         | 29 (82.9)                  | 0.12    |
| 1.6–3.0                            | 33         | 19 (59.6)                  |         | 40         | 28 (70.0)                  |         |
| 3.1–5.0                            | 25         | 14 (56.0)                  |         | 29         | 24 (82.8)                  |         |
| > 5                                | 18         | 10 (55.6)                  |         | 19         | 14 (73.7)                  |         |
| Maternal satisfaction with DBS/ACT |            |                            |         |            |                            |         |
| Unsatisfied                        | 0          | 0 (0.0)                    | 0.02    | 1          | 1 (100.0)                  | 0.12    |
| Satisfied                          | 29         | 18 (62.1)                  |         | 36         | 29 (80.6)                  |         |
| Very satisfied                     | 72         | 61 (84.7)                  |         | 68         | 64 (94.1)                  |         |
| <b>Total</b>                       | <b>123</b> | <b>79 (64.2)</b>           |         | <b>124</b> | <b>95 (76.6)</b>           |         |

Missing data vary by variables, and the number of participants with missing data were as follows for ACT: 2 for time mother spends with child during weekdays; 24 for maternal alcohol use; 1 for maternal perceived stress; 1 for positive and involved parent; 1 for inconsistent discipline; 1 for child maltreatment; 1 for maternal intimate partner; 22 for distance from ACT centre; 22 for maternal satisfaction with ACT. For the DBS group the number of participants with missing data were as follows: 17 for maternal alcohol use; 19 for perceived distance from DBS centre; 19 for maternal satisfaction with DBS.

practical difficulties), rather than the more static information captured at fixed time-points (prior and after interventions) in our trial. It will be important for future studies to collect more detailed data on such dynamic processes occurring through programme implementation, and to identify whether similar factors impede, or can encourage, programme participation across different social and cultural contexts.

Results across this and other studies examining predictors of adherence to parenting programmes are quite mixed. Although a study conducted in the United States (Knox & Burkhart, 2014) found that younger parents had lower retention rates in the ACT programme than older parents, and a Brazilian study (Altafim & Linhares, 2019) did not find differences by age, we found that younger parents actually adhered better to the ACT programme. A previous study in Brazil (Pedro, Altafim, & Linhares, 2017) examined retention rates for ACT based on socioeconomic status, showing that the retention rate was lower in a low-income group (51%) than in a higher income group (79%). Baker and colleagues (2011) also found that high income families had higher adherence rates than low income families (83% vs. 38%;  $p < 0.01$ ; Baker et al., 2011). Finally, a meta-analysis conducted by Reyno was in line with these individual results about drop out and socioeconomic status. (Reyno & McGrath, 2006). Because the current study was conducted with mothers of low socioeconomic status (family income in poorest tercile in the cohort), we would not expect to find that family income would explain attendance differences so strongly in our study, and no differences were observed.

Both interventions were evaluated very positively by the participants, regarding the quality, facility, satisfaction, and possibility of recommending to a friend. These positive perceptions demonstrate that the participants of both parenting programs had a good acceptance of the interventions. As highlighted in the literature, there has been a rapid global transporting of evidence-based parenting programs to different countries from where they were originally developed, and little is known about factors that can influence their implementation in new contexts (Gardner, Montgomery, & Kner, 2016). Therefore, considering that both programs were developed in other countries, the high acceptability of them in a Brazilian population, and relatively high adherence rates, show that they are promising interventions for possible public policies.

This study has some limitations. We examined what may be considered more distal family and child characteristics as potential correlates of programme adherence, and it may be that more proximal factors (e.g. facilitator characteristics or dynamic factors during the interventions) are more helpful in explaining variation in attendance. We were not able to assess whether the quality of implementation by

each facilitator correlated with adherence rates because many mothers received programme sessions from multiple facilitators (when they missed sessions or needed to change schedule). Of course, the results may not generalize to other social settings, or other interventions. Another issue is that for two variables (mothers' perceptions about the interventions and maternal alcohol use) there was a significant proportion of missing data, limiting conclusions about the importance of these two variables.

## 5. Conclusion

Our study contributes to the scarce literature of predictors of engagement in parenting programmes in randomized controlled trials in middle-income countries. This study can help the planning of future trials and public policies scaling up parent-training programmes, by taking into consideration the strategies we took to increase attendance to reasonably high levels, and the barriers to programme-engagement highlighted by mothers in the study. Finally, research is needed to better understand dynamic issues involved in programme participation during its implementation.

## Funding

This work was supported by the Wellcome Trust Foundation [Investigator Award to JM – 210735\_Z.18\_Z], Fondation Botnar (Project 6260), Pelotas City Hall, *Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES)* – Finance Code 001, and the UKRI GCRF Accelerating Achievement for Africa's Adolescents Hub: ES/S008101/1.

## CRediT authorship contribution statement

**Rafaela Costa Martins:** Conceptualization, Methodology, Formal analysis, Investigation, Data curation, Writing - original draft, Writing - review & editing. **Adriana Kramer Fiala Machado:** Methodology, Formal analysis, Data curation, Writing - original draft, Writing - review & editing. **Yulia Shenderovich:** Writing - original draft, Writing - review & editing. **Tâmara Biolo Soares:** Investigation, Writing - original draft, Writing - review & editing. **Suélien Henriques da Cruz:** Investigation, Writing - original draft, Writing - review & editing. **Elisa Raquel Pisani Altafim:** Writing - original draft, Writing - review & editing. **Maria Beatriz Martins Linhares:** Writing - review & editing. **Fernando Barros:** Writing - review & editing. **Iná S. Santos:** Writing - review & editing, Supervision. **Joseph Murray:** Conceptualization, Methodology, Resources, Writing - review & editing, Supervision,

**Table 2**

Crude and adjusted analysis of rates of ACT and DBS course completion, according to maternal and other characteristics, in the Pelotas PIÁ Trial.

|                                              | ACT                     |                         | DBS               |                     |
|----------------------------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------|---------------------|
|                                              | Crude OR (95%CI)        | Adjusted OR (95%CI)     | Crude OR (95%CI)  | Adjusted OR (95%CI) |
| <b>First level</b>                           |                         |                         |                   |                     |
| Maternal age                                 |                         |                         |                   |                     |
| ≤ 25                                         | 1.00                    | 1.00                    | 1.00              | 1.00                |
| > 25                                         | <b>0.37 (0.17–0.81)</b> | <b>0.38 (0.17–0.83)</b> | 1.13 (0.46–2.80)  | 1.55 (0.53–4.56)    |
| Maternal education (in years)                |                         |                         |                   |                     |
| 0–4                                          | 1.00                    | 1.00                    | 1.00              | 1.00                |
| 5–8                                          | 0.68 (0.21–2.17)        | 0.43 (0.12–1.49)        | 1.91 (0.64–5.71)  | 2.30 (0.73–7.17)    |
| 9+                                           | 0.62 (0.19–2.03)        | 0.45 (0.13–1.57)        | 1.45 (0.46–4.55)  | 1.50 (0.44–5.10)    |
| Maternal relationship                        |                         |                         |                   |                     |
| Without partner                              | 1.00                    | 1.00                    | 1.00              | 1.00                |
| With partner                                 | 0.96 (0.42–2.19)        | 1.44 (0.58–3.57)        | 0.87 (0.34–2.18)  | 0.71 (0.26–1.92)    |
| Income (tertile)                             |                         |                         |                   |                     |
| 1° (poorest)                                 | 1.00                    | 1.00                    | 1.00              | 1.00                |
| 2°                                           | 0.73 (0.29–1.89)        | 0.61 (0.21–1.74)        | 1.10 (0.40–3.05)  | 1.07 (0.37–3.08)    |
| 3° (richest)                                 | 0.65 (0.27–1.57)        | 0.60 (0.22–1.63)        | 0.76 (0.27–2.14)  | 0.79 (0.27–2.33)    |
| Only child                                   |                         |                         |                   |                     |
| Yes                                          | 1.00                    | 1.00                    | 1.00              | 1.00                |
| No                                           | 0.53 (0.25–1.14)        | 0.77 (0.31–1.90)        | 0.71 (0.29–1.72)  | 0.65 (0.26–1.60)    |
| Overcrowded houses                           |                         |                         |                   |                     |
| < 3 individuals per room                     | 1.00                    | 1.00                    | 1.00              | 1.00                |
| ≥ 3 individuals per room                     | 1.55 (0.74–3.26)        | 1.30 (0.59–2.89)        | 1.55 (0.64–3.76)  | 1.40 (0.56–3.51)    |
| Time spent with the children during weekdays |                         |                         |                   |                     |
| < 24 h                                       | 1.00                    | 1.00                    | 1.00              | 1.00                |
| All the time                                 | 0.56 (0.26–1.22)        | 0.53 (0.24–1.18)        | 1.75 (0.76–4.07)  | 1.75 (0.76–4.07)    |
| <b>Second level</b>                          |                         |                         |                   |                     |
| Maternal depression                          |                         |                         |                   |                     |
| No                                           | 1.00                    | 1.00                    | 1.00              | 1.00                |
| Yes                                          | 1.03 (0.43–2.14)        | 0.96 (0.41–2.23)        | 1.12 (0.48–2.58)  | 0.96 (0.35–2.64)    |
| Maternal perceived stress                    |                         |                         |                   |                     |
| Low                                          | 1.00                    | 1.00                    | 1.00              | 1.00                |
| Moderate                                     | 1.27 (0.51–3.15)        | 1.20 (0.47–3.08)        | 1.27 (0.53–3.06)  | 1.28 (0.53–3.10)    |
| High                                         | 0.67 (0.08–5.54)        | 0.50 (0.05–4.60)        | 2.20 (0.24–20.40) | 2.52 (0.27–23.83)   |
| <b>Third level</b>                           |                         |                         |                   |                     |
| Maternal intimate partner violence           |                         |                         |                   |                     |
| Without partner                              | 1.00                    | 1.00                    | 1.00              | 1.00                |
| No                                           | 0.93 (0.39–2.21)        | 1.17 (0.45–3.03)        | 0.72 (0.27–1.91)  | 0.61 (0.22–1.68)    |
| Yes                                          | 1.02 (0.34–3.10)        | 1.06 (0.32–3.47)        | 1.32 (0.38–4.58)  | 1.17 (0.33–4.13)    |
| Child's maltreatment                         |                         |                         |                   |                     |
| No                                           | 1.00                    | 1.00                    | 1.00              | 1.00                |
| Yes                                          | 0.71 (0.27–1.84)        | 0.53 (0.19–1.49)        | 0.90 (0.30–2.73)  | 0.72 (0.22–2.30)    |
| <b>Fourth level</b>                          |                         |                         |                   |                     |
| Positive and involved parenting              |                         |                         |                   |                     |
| No                                           | 1.00                    | 1.00                    | 1.00              | 1.00                |
| Yes                                          | 2.51 (0.87–7.29)        | 2.16 (0.72–6.46)        | 1.16 (0.42–3.20)  | 1.22 (0.43–3.47)    |
| Harsh parenting                              |                         |                         |                   |                     |
| No                                           | 1.00                    | 1.00                    | 1.00              | 1.00                |
| Yes                                          | 2.35 (0.92–6.02)        | 1.64 (0.59–4.57)        | 2.11 (0.73–6.08)  | 2.00 (0.69–5.80)    |
| Inconsistent discipline                      |                         |                         |                   |                     |
| No                                           | 1.00                    | 1.00                    | 1.00              | 1.00                |
| Yes                                          | 1.47 (0.56–3.89)        | 1.03 (0.36–2.92)        | 0.74 (0.27–1.98)  | 0.61 (0.22–1.71)    |
| <b>Fifth level</b>                           |                         |                         |                   |                     |
| Participated in PIM                          |                         |                         |                   |                     |
| No                                           | 1.00                    | 1.00                    | 1.00              | 1.00                |
| Yes                                          | 1.33 (0.52–3.36)        | 1.02 (0.38–2.77)        | 0.49 (0.20–1.20)  | 0.51 (0.21–1.24)    |
| Participated in any trial                    |                         |                         |                   |                     |
| No                                           | 1.00                    | 1.00                    | 1.00              | 1.00                |
| Yes                                          | 0.95 (0.40–2.24)        | 1.14 (0.47–2.78)        | 0.84 (0.30–2.37)  | 0.92 (0.32–2.66)    |
| <b>Sixth level</b>                           |                         |                         |                   |                     |
| Child's conduct problems                     |                         |                         |                   |                     |
| Normal                                       | 1.00                    | 1.00                    | 1.00              | 1.00                |
| High                                         | 1.37 (0.58–3.21)        | 1.09 (0.44–2.73)        | 1.94 (0.83–4.57)  | 1.87 (0.79–4.42)    |

(continued on next page)

Table 2 (continued)

|                                        | ACT              |                         | DBS               |                     |
|----------------------------------------|------------------|-------------------------|-------------------|---------------------|
|                                        | Crude OR (95%CI) | Adjusted OR (95%CI)     | Crude OR (95%CI)  | Adjusted OR (95%CI) |
| <b>Seventh level</b>                   |                  |                         |                   |                     |
| Month of the first session             |                  |                         |                   |                     |
| July                                   | 1.00             | 1.00                    | 1.00              | 1.00                |
| August                                 | 0.31 (0.09–1.11) | 0.50 (0.10–2.42)        | 0.62 (0.21–1.84)  | 3.62 (0.59–22.25)   |
| September to November                  | 0.54 (0.15–1.99) | 0.89 (0.18–4.37)        | (0.58–7.78)       | 1.99 (0.35–11.16)   |
| Perceived distance from DBS/ACT centre |                  |                         |                   |                     |
| Far                                    | 1.00             | 1.00                    | 1.00              | 1.00                |
| Near                                   | 2.74 (0.97–7.71) | 1.92 (0.51–7.29)        | 1.75 (0.48–6.38)  | 0.79 (0.13–4.64)    |
| Distance from DBS/ACT centre (km)      |                  |                         |                   |                     |
| ≤ 1.5                                  | 1.00             | 1.00                    | 1.00              | 1.00                |
| 1.6–3.0                                | 0.42 (0.16–1.09) | <b>0.15 (0.03–0.78)</b> | 0.48 (0.16–1.46)  | 5.33 (0.58–49.03)   |
| 3.1–5.0                                | 0.39 (0.14–1.10) | <b>0.10 (0.02–0.54)</b> | 0.99 (0.27–3.66)  | 3.37 (0.41–27.50)   |
| > 5                                    | 0.38 (0.12–1.21) | <b>0.13 (0.02–0.83)</b> | 0.58 (0.15–2.23)  | 0.78 (0.11–5.38)    |
| Satisfaction with the intervention     |                  |                         |                   |                     |
| Satisfied                              | <b>1.00</b>      | <b>1.00</b>             | <b>1.00</b>       | 1.00                |
| Very satisfied                         | 3.39 (1.26–9.10) | 5.32 (1.59–17.80)       | 3.86 (1.05–14.24) | 4.98 (1.26–19.74)   |

95%CI: 95% confidence interval; OR: odds ratio; significant results are in bold; alcohol consumption and the category “less than satisfied” were excluded from this analysis due to the small sample sizes. In adjusted analyses, variables are adjusted for all other variables in the same and preceding levels.

Table 3

Maternal post-intervention perceptions about DBS and ACT programmes among mothers who participated in at least one session of each intervention.

|                                                                 | ACT (n = 102) |           | DBS (n = 106) |           |
|-----------------------------------------------------------------|---------------|-----------|---------------|-----------|
|                                                                 | n (%)         | CI95%     | n (%)         | CI95%     |
| <b>Overall quality<sup>*,†</sup></b>                            |               |           |               |           |
| Very good                                                       | 85 (84.1)     | 75.6–90.1 | 80 (76.2)     | 67.0–83.4 |
| Good                                                            | 15 (14.9)     | 9.1–23.3  | 24 (22.9)     | 15.7–32.0 |
| Less than good                                                  | 1 (1.0)       | 0.1–6.8   | 1 (0.9)       | 0.1–6.6   |
| <b>Overall satisfaction<sup>*,†</sup></b>                       |               |           |               |           |
| Very satisfied                                                  | 72 (71.3)     | 61.6–79.3 | 68 (64.8)     | 55.1–73.4 |
| Satisfied                                                       | 29 (22.7)     | 20.7–38.4 | 36 (34.3)     | 25.8–44.0 |
| Less than satisfied                                             | 0 (0.0)       | –         | 1 (0.9)       | 0.1–6.6   |
| <b>Participated in discussions<sup>**,†</sup></b>               |               |           |               |           |
| Very much                                                       | 91 (91.0)     | 83.5–95.3 | 100 (95.2)    | 89.0–98.0 |
| A bit                                                           | 9 (9.0)       | 4.7–16.5  | 3 (2.9)       | 0.9–8.6   |
| Not at all                                                      | 0 (0.0)       | –         | 2 (1.9)       | 0.5–7.4   |
| <b>Would recommend the programme to a friend<sup>*,††</sup></b> |               |           |               |           |
| Definitely                                                      | 71 (70.3)     | 60.6–78.5 | 63 (60.6)     | 50.8–69.6 |
| Should make an effort                                           | 21 (20.8)     | 13.9–29.9 | 33 (31.7)     | 23.4–41.4 |
| If they have time                                               | 9 (8.9)       | 4.7–16.4  | 8 (7.7)       | 3.9–14.7  |
| Should not participate                                          | 0 (0.0)       | –         | 0 (0.0)       | –         |
| <b>Financial assistance was important<sup>*,†</sup></b>         |               |           |               |           |
| Not at all                                                      | 1 (1.0)       | 0.1–6.8   | 2 (1.9)       | 0.5–7.4   |
| A little                                                        | 28 (27.7)     | 19.8–37.3 | 22 (21.0)     | 14.1–29.9 |
| Very important                                                  | 72 (71.3)     | 61.6–79.3 | 81 (77.1)     | 68.0–84.3 |
| <b>Difficulty level of the intervention<sup>*,††</sup></b>      |               |           |               |           |
| Easy                                                            | 85 (84.2)     | 75.6–90.1 | 95 (91.3)     | 84.1–95.5 |
| Difficult                                                       | 16 (15.8)     | 9.9–24.4  | 9 (8.7)       | 4.5–15.9  |

Note: These results are based on 102 ACT mothers and 106 DBS mothers who completed a post-intervention questionnaire about the experience of the programme they participated in due to logistic problems in the beginning of data collection.

\* One missing value for ACT;

\*\* Two missing values for ACT;

† One missing value for DBS;

†† Two missing values for DBS

Funding acquisition.

## Declaration of Competing Interest

The authors declare that they have no known competing financial

interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

## Appendix A. Supplementary material

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.childyouth.2020.105418>.

## References

- Altamir, E. R. P., & Linhares, M. B. M. (2019). Preventive intervention for strengthening effective parenting practices: A randomized controlled trial. *Journal of Applied Developmental Psychology*, 62, 160–172. <https://doi.org/10.1016/j.appdev.2019.03.003>.
- Altamir, E. R. P., McCoy, D. C., & Linhares, M. B. M. (2018). Relations between parenting practices, socioeconomic status, and child behavior in Brazil. *Children and Youth Services Review*, 89, 93–102. <https://doi.org/10.1016/j.childyouth.2018.04.025>.
- Altamir, E. R. P., Pedro, M. E. A., & Linhares, M. B. M. (2016). Effectiveness of ACT Raising Safe Kids Parenting Program in a developing country. *Children and Youth Services Review*, 70, 315–323. <https://doi.org/10.1016/j.childyouth.2016.09.038>.
- American Psychological Association (APA) (2020). ACT Raising Safe Kids Program. <https://www.apa.org/act/>.
- Annan, J., Sim, A., Puffer, E. S., Salhi, C., & Betancourt, T. S. (2017). Improving mental health outcomes of burmese migrant and displaced children in Thailand: A community-based randomized controlled trial of a parenting and family skills intervention. *Prevention Science*, 18(7), 793–803. <https://doi.org/10.1007/s11121-016-0728-2>.
- Bagner, D. M., & Graziano, P. A. (2013). Barriers to success in parent training for young children with developmental delay: The role of cumulative risk. *Behavior Modification*, 37(3), 356–377. <https://doi.org/10.1177/0145445512465307>.
- Baker, C. N., Arnold, D. H., & Meagher, S. (2011). Enrollment and attendance in a parent training prevention program for conduct problems. *Prevention Science*, 12(2), 126–138. <https://doi.org/10.1007/s11121-010-0187-0>.
- Chacko, A., Jensen, S. A., Lowry, L. S., Cornwell, M., Chimklis, A., Chan, E., ... Pulgarin, B. (2016). Engagement in behavioral parent training: Review of the literature and implications for practice. *Clinical Child and Family Psychology Review*. <https://doi.org/10.1007/s10567-016-0205-2>.
- Cohen, S., Kamarck, T., & Mermelstein, R. (1983). A global measure of perceived stress. *Journal of Health and Social Behavior*, 24(4), 385–396. <https://doi.org/10.2307/2136404>.
- CONSORT. (2010). 12a. Statistical methods. CONSORT: Transparent Reporting of Trials. <http://www.consort-statement.org/checklists/view/32-consort-2010/96-statistical-methods>.
- Domingues, M. R., Bassani, D. G., da Silva, S. G., Coll, C. de V. N., da Silva, B. G. C., & Hallal, P. C. (2015). Physical activity during pregnancy and maternal-child health (PAMELA): Study protocol for a randomized controlled trial. *Trials*, 16(1), 227. <https://doi.org/10.1186/s13063-015-0749-3>.
- Faro, A. (2015). Análise Fatorial Confirmatória das Três Versões da Perceived Stress Scale (PSS): Um estudo de base populacional. *Psicologia: Reflexão e Crítica*, 28(1), 21–30. <https://doi.org/10.1590/1678-7153.201528103>.
- Finan, S. J., Swierzbiolek, B., Priest, N., Warren, N., Yap, M. (2018). Parental engagement in preventive parenting programs for child mental health: a systematic review of predictors and strategies to increase engagement. *PeerJ*, 6, e4676. <http://doi.org/10.2196/peerj.4676>.



- 7717/peerj.4676.
- Finkelhor, D., Hamby, S. L., Ormrod, R., & Turner, H. (2005). The Juvenile victimization questionnaire: Reliability, validity, and national norms. *Child Abuse & Neglect*, 29(4), 383–412. <https://doi.org/10.1016/j.chiabu.2004.11.001>.
- Fleithlich, B., Cortázar, P. G., & Goodman, R. (2000). Strengths and difficulties questionnaire (SDQ). *Infanto Revista de neuropsiquiatria da infância e adolescência*, 8(1), 44–50.
- García-Moreno, C., Jansen, H., Ellsberg, M., Heise, L., & Watts, C. (2005). WHO multi-country study on women's health and domestic violence against women initial results on prevalence, health outcomes and women's responses. World Health Organization.
- Gardner, F., Montgomery, P., & Knerr, W. (2016). Transporting evidence-based parenting programs for child problem behavior (Age 3–10) between countries: Systematic review and meta-analysis. *Journal of Clinical Child & Adolescent Psychology*, 45(6), 749–762. <https://doi.org/10.1080/15374416.2015.1015134>.
- Garvey, C., Julion, W., Fogg, L., Kratovil, A., & Gross, D. (2006). Measuring participation in a prevention trial with parents of young children. *Research in Nursing & Health*, 29(3), 212–222. <https://doi.org/10.1002/nur.20127>.
- Gershater-Molko, R. M., Lutzker, J. R., & Wesch, D. (2003). Project SafeCare: Improving health, safety, and parenting skills in families reported for, and at-risk for child maltreatment. *Journal of Family Violence*, 18, 377–386. <https://doi.org/10.1023/A:1026219920902>.
- Goodman, R., Ford, T., Simmons, H., Gatward, R., & Meltzer, H. (2000). Using the Strengths and Difficulties Questionnaire (SDQ) to screen for child psychiatric disorders in a community sample. *British Journal of Psychiatry*, 177(6), 534–539. <https://doi.org/10.1192/bjp.177.6.534>.
- Gupta, S. K. (2011). Intention-to-treat concept: A review. *Perspectives in Clinical Research*, 2(3), 109. <https://doi.org/10.4103/2229-3485.83221>.
- Hallal, P. C., Bertoldi, A. D., Domingues, M. R., da Silveira, M. F., Demarco, F. F., da Silva, I. C. M., Barros, F. C., Victora, C. G., & Bassani, D. G. (2018). Cohort Profile: The 2015 Pelotas (Brazil) Birth Cohort Study. *International Journal of Epidemiology*, 47(4), 1048–1048h. <https://doi.org/10.1093/ije/dyx219>.
- Heinrichs, N., Bertram, H., Kuschel, A., & Hahlweg, K. (2005). Parent recruitment and retention in a universal prevention program for child behavior and emotional problems: Barriers to research and program participation. *Prevention Science*, 6(4), 275–286. <https://doi.org/10.1007/s11211-005-0006-1>.
- Ingoldsby, E. M. (2010). Review of interventions to improve family engagement and retention in parent and child mental health programs. *Journal of Child and Family Studies*, 19, 629–645. <https://doi.org/10.1007/s10826-009-9350-2>.
- Knox, M., Burkhart, K., & Hunter, K. E. (2010). ACT against violence parents raising safe kids program: Effects on maltreatment-related parenting behaviors and beliefs. *Journal of Family Issues*, 32(1), 55–74. <https://doi.org/10.1177/0192513x10370112>.
- Knox, M., & Burkhart, K. (2014). A multi-site study of the ACT Raising Safe Kids program: Predictors of outcomes and attrition. *Children and Youth Services Review*, 39, 20–24. <https://doi.org/10.1016/j.chi.2014.01.006>.
- Lavigne, J. V., Lebaillly, S. A., Gouze, K. R., Binns, H. J., Keller, J., & Pate, L. (2010). Predictors and correlates of completing behavioral parent training for the treatment of oppositional defiant disorder in pediatric primary care. *Behavior therapy*, 41(2), 198–211. <https://doi.org/10.1016/j.beth.2009.02.006>.
- Leijten, P., Raaijmakers, M. A. J., Castro, B. O., Ban, E., & Matthys, W. (2017). Effectiveness of the incredible years parenting program for families with socio-economically disadvantaged and ethnic minority backgrounds. *Journal of Clinical Child & Adolescent Psychology*, 46(1), 59–73. <https://doi.org/10.1080/15374416.2015.1038823>.
- Lu, C., Black, M. M., & Richter, L. M. (2016). Risk of poor development in young children in low-income and middle-income countries: An estimation and analysis at the global, regional, and country level. *The Lancet Global Health*, 4(12), e916–e922. [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(16\)30266-2](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(16)30266-2).
- Luft, C. D. B., Sanches, S. O., Mazo, G. Z., & Andrade, A. (2007). Versão Brasileira da Escala de Estresse Percebido: tradução e validação para idosos. *Revista de Saúde Pública*, 41(4), 606–615.
- Matijasevich, A., Munhoz, T. N., Tavares, B. F., Barbosa, A. P. P. N., da Silva, D. M., Abitante, M. S., Dall'Agnol, T. A., & Santos, I. S. (2014). Validation of the Edinburgh postnatal depression scale (EPDS) for screening of major depressive episode among adults from the general population. *BMC Psychiatry*, 14(1), 284. <https://doi.org/10.1186/s12888-014-0284-x>.
- Mendéz, E. B. (1999). *Uma versão brasileira do AUDIT (Alcohol Use Disorders Identification Test)* (Master Dissertation) Brazil: Universidade Federal de Pelotas.
- Mikhulu Trust. (2019). Dialogic Book-Sharing: strengthening bonds between child and caregiver. <https://www.mikhulutrust.org/>.
- Murray, J., Santos, I. S., Bertoldi, A. D., Murray, L., Arteche, A., Tovo-Rodrigues, L., ... Cooper, P. (2019). The effects of two early parenting interventions on child aggression and risk for violence in Brazil (The PIA Trial): Protocol for a randomised controlled trial. *Trials*, 20(1), 253. <https://doi.org/10.1186/s13063-019-3356-x>.
- Nix, R. L., Bierman, K. L., McMahon, R. J., & The Conduct Problems Prevention Research Group. (2009). How attendance and quality of participation affect treatment response to parent management training. *Journal of Consulting and Clinical Psychology*, 77(3), 429–438. <https://doi.org/10.1037/a0015028>.
- Nock, M. K., & Ferriter, C. (2005). Parent management of attendance and adherence in child and adolescent therapy: A conceptual and empirical review. *Clinical Child and Family Psychology Review*, 8(2), 149–166. <https://doi.org/10.1007/s10567-005-4753-0>.
- Ozbek, A., Gencer, O., & Mustan, A. T. (2018). Which parents dropout from an evidence-based parenting programme (Triple-P) at CAMHS? Comparison of programme-completing and dropout parents. *Clinical Child Psychology and Psychiatry*, 24(1), 144–157. <https://doi.org/10.1177/1359104518792294>.
- Pedro, M. E. A., Altafim, E. R. P., & Linhares, M. B. M. (2017). ACT Raising Safe Kids Program to promote positive maternal parenting practices in different socioeconomic contexts. *Psychosocial Intervention*, 26(2), 63–72. <https://doi.org/10.1016/j.psi.2016.10.003>.
- Pontes, L. B., Siqueira, A. C., & Williams, L. C. de A. (2019). A Systematic Literature Review of the ACT Raising Safe Kids Parenting Program. *Journal of Child and Family Studies*, 28(12), 3231–3244. <https://doi.org/10.1007/s10826-019-01521-6>.
- Reyno, S. M., & McGrath, P. J. (2006). Predictors of parent training efficacy for child externalizing behavior problems—A meta-analytic review. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*, 47(1), 99–111. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7610.2005.01544.x>.
- Salatino-Oliveira, A., Murray, J., Kieling, C., Genro, J. P., Polanczyk, G., Anselmi, L., ... Hutz, M. H. (2016). COMT and prenatal maternal smoking in associations with conduct problems and crime: The Pelotas 1993 birth cohort study. *Scientific Reports*, 6(29900). <https://doi.org/10.1038/srep29900>.
- Sanders, M. R., Morawska, A., Haslam, D. M., Filus, A., & Fletcher, R. (2014). Parenting and Family Adjustment Scales (PAFAS): Validation of a Brief Parent-Report Measure for Use in Assessment of Parenting Skills and Family Relationships. *Child Psychiatry & Human Development*, 45(3), 255–272. <https://doi.org/10.1007/s10578-013-0397-3>.
- Santana, L. R. (2018). *Adaptação transcultural e validação da Parenting and Family Adjustment Scales (PAFAS)* (Master Dissertation). Brazil: Universidade Federal da Grande Dourados.
- Santos, I. S., Bassani, D. G., Matijasevich, A., Halal, C. S., Del-Ponte, B., da Cruz, S. H., ... Hallal, P. C. (2016). Infant sleep hygiene counseling (sleep trial): Protocol of a randomized controlled trial. *BMC Psychiatry*, 16(1), 307. <https://doi.org/10.1186/s12888-016-1016-1>.
- Saunders, J. B., Aasland, O. G., Babor, T. F., De La Fuente, J. R., & Grant, M. (1993). Development of the Alcohol Use Disorders Identification Test (AUDIT): WHO Collaborative Project on Early Detection of Persons with Harmful Alcohol Consumption-II. *Addiction*, 88(6), 791–804. <https://doi.org/10.1111/j.1360-0443.1993.tb02093.x>.
- Shenderovich, Y., Eisner, M., Cluver, L., Doubt, J., Berezin, M., Majokweni, S., & Murray, A. L. (2018). What Affects Attendance and Engagement in a Parenting Program in South Africa? *Prevention Science*, 19(7), 977–986. <https://doi.org/10.1007/s11211-018-0941-2>.
- The World Bank. (2020). World Bank Country and Lending Groups. <https://datahelpdesk.worldbank.org/knowledgebase/articles/906519-world-bank-country-and-lending-groups>.
- Vally, Z., Murray, L., Tomlinson, M., & Cooper, P. J. (2015). The impact of dialogic book-sharing training on infant language and attention: A randomized controlled trial in a deprived South African community. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*, 56(8), 865–873. <https://doi.org/10.1111/jcpp.12352>.
- Weeland, J., Chhangur, R., van der Giessen, D., Matthys, W., de Castro, B. O., & Overbeek, G. (2017). Intervention Effectiveness of The Incredible Years: New Insights into Sociodemographic and Intervention-Based Moderators. *Behavior Therapy*, 48(1), 1–18. <https://doi.org/10.1016/j.beth.2016.08.002>.
- Werba, B. E., Eyberg, S. M., Boggs, S. R., & Algina, J. (2006). Predicting outcome in parent-child interaction therapy: success and attrition. *Behavior Modification*, 30(5), 618–646. <https://doi.org/10.1177/0145445504272977>.
- Zemore, S. E. (2012). The effect of social desirability on reported motivation, substance use severity, and treatment attendance. *Journal of Substance Abuse Treatment*, 42(4), 400–412. <https://doi.org/10.1016/j.jsat.2011.09.013>.

## NOTA À IMPRENSA

---

O cortisol é um hormônio comumente chamado de “hormônio do estresse”. Você já deve ter ouvido falar que o estresse faz mal à saúde, certo? Essa frase é verdade quando o seu corpo mantém altos níveis de cortisol por muito tempo. Isso pode acarretar problemas nos sistemas imunológico, cardiovascular, nervoso, entre outros. Para medir esse cortisol crônico, estudos científicos vem coletando amostras de cabelo para quantificar o nível de cortisol no corpo ao longo de meses. A média de crescimento capilar é de, aproximadamente, 1cm por mês, portanto se queremos avaliar três meses de estresse, analisamos os 3cm mais próximos ao couro cabeludo.

Nesse sentido, um estudo realizado pelo Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia da Universidade Federal de Pelotas avaliou o nível de cortisol capilar de crianças com 4 anos e seus responsáveis, utilizando dados da Coorte de Nascimentos de 2015. O estudo fez parte da tese da doutoranda Rafaela Costa Martins, orientada pelo Prof. Dr. Joseph Murray e coorientada pela professora Luciana Tovo Rodrigues. Rafaela fez um ano de doutorado sanduíche em Hamilton, no Canadá, na McMaster University, onde foi aprender mais sobre o assunto com a especialista no assunto, professora Andrea Gonzalez.

O tema da pesquisa, que ainda é bastante novo, ainda é pouco explorado nos países de baixa e média renda, como o Brasil. Os pesquisadores tentaram analisar o que determina a mudança nos valores desse hormônio do estresse principalmente dentre características socioeconômicas, e encontrou que a variável mais importante é a educação. Isso quer dizer que aquelas pessoas com menor nível de escolaridade possuem maior nível de estresse crônico espalhado pelo organismo. Os pesquisadores ainda vão explorar no futuro o que também mantém os níveis de cortisol mais elevados dentre características relacionadas à saúde mental.

Outro objetivo dos pesquisadores foi aplicar dois programas educacionais para mães para tentar reduzir o nível de cortisol crônico entre as crianças e seus responsáveis. Porém, devido à pandemia do COVID-19, o estudo precisou ser interrompido já na análise de dados. Porém, em breve teremos uma resposta se apenas participando de programas educacionais podemos reduzir o nível de estresse. A ideia é que com uma intervenção rápida e barata possamos influenciar positivamente na vida das famílias, principalmente dentre aquelas em situação de vulnerabilidade.